

## DNS 试剂说明书

**货号:** AD7800

**规格:** 100mL/500mL

**保存:** 4°C 避光保存, 12 个月有效。

### 产品说明:

植物体内的碳素营养状况以及农产品的品质性状, 常以糖含量作为重要指标。单糖和某些寡糖 (如麦芽糖) 含有游离的醛基或酮基, 具有还原性, 属于还原糖; 多糖和蔗糖等属于非还原糖。可以利用多糖能被酸水解为单糖的特性通过测定水解后的单糖含量对总糖进行测定。

DNS 试剂是植物总糖和还原糖检测 (硝基水杨酸法) 的成分之一, 其检测原理是还原糖在碱性条件下被氧化成糖酸, 3,5-二硝基水杨酸被还原为棕红色的氨基化合物。在一定范围内, 还原糖的量与棕红色产物的颜色深浅程度呈一定比例关系。在 540nm 处测定棕红色物质的吸光度, 该吸光度值与还原糖含量呈线性关系, 利用比色法和标准曲线测得样品中的还原糖和总糖的含量。本试剂仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

### 自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、50mL 离心管
- 3、离心机
- 4、水浴锅或恒温箱
- 5、分光光度计
- 6、盐酸溶液、氢氧化钠溶液

### 操作步骤: (仅供参考)

#### 1、还原糖的提取:

- (1) 称取植物样品 0.5-3g, 剪碎, 加入蒸馏水约 3mL 匀浆, 转移至烧杯或三角瓶中, 用 12mL 蒸馏水冲洗研磨器 2-3 次, 洗出液也转移至该容器。
- (2) 50°C 水浴 30min, 并不时搅拌, 以便还原糖彻底浸出。
- (3) 将沉淀和浸出液转移至 50mL 离心管, 4000g 离心 5min。
- (4) 留取上清液, 向沉淀中加入 20mL 蒸馏水, 混匀, 再次 4000g 离心 5min。
- (5) 留取上清液, 将二次获得的上清液合并, 用蒸馏水定容至 100mL (提取液), 混匀, 作为还原糖待测液。

#### 2、总糖的水解和提取:

- (1) 称取植物样品 0.5-3g, 剪碎, 加入蒸馏水约 3mL 匀浆, 转移至烧杯或三角瓶中, 用 12mL 蒸馏水冲洗研磨器 2-3 次, 洗出液也转移至该容器。
- (2) 向容器中加入 10mL 6M 盐酸溶液, 搅拌均匀, 煮沸 30min, 并不时搅拌。
- (3) 取两滴滴加于载玻片上, 滴加一滴显色液, 检查水解是否完全, 如已经水解完全, 则不显示蓝色。

(4) 水解完毕后，冷却至室温，加入 6M 氢氧化钠溶液，使溶液 pH 至 7.4，用蒸馏水定容至 100mL，混匀，4000g 离心 5min 或过滤。

(5) 取上清或滤液 10mL，用蒸馏水定容至 100mL，成稀释 1000 倍的总糖水解液（提取液），取 1mL 总糖水解液，测定其还原糖的含量。

3、制作葡萄糖标准曲线：取干净离心管或试管，按下表进行操作，以 0 号调零，检测 540nm 处吸光度，以吸光度值为纵坐标，各标准浓度（mg/mL）为横坐标作图得标准曲线。

加入物质（mL）	0	1	2	3	4	5
Glu 标准（1mg/mL）	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
DNS 试剂	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
沸水浴中准确煮沸 5min，取出，自来水冷却至室温。						
蒸馏水	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
相当于葡萄糖量	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0

4、还原糖测定：取制备好的还原糖提取液或者总糖水解液 1mL，分别加入 DNS 试剂 2mL，其余操作同标准曲线的操作，540nm 处测定各管的吸光度。

计算：

还原糖的百分含量（%）=  $(C \times VT) / (m \times VS) \times 100$

总糖的百分含量：

总糖含量（%）=  $(C \times VT) / (m \times VS) \times 100 \times 10 \times 0.9$

式中：C=从标准曲线查的糖量（mg）

VT=提取液的体积（mL）

m=植物样品的质量（mg）

VS=测定时用的样品体积（mL）

#### 注意事项：

- 1、上述低温试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降。
- 2、待测样本如不能及时测定，应置于 2-8°C 保存，3 天内稳定。
- 3、如果样品还原糖浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。
- 4、总糖 计算公式在测定干扰杂质很少、还原糖含量相对总糖含量很少时使用， $\times 0.9$  是为了从测定出的总糖水解成单糖中，扣除水解时所消耗的水量。

#### 相关文献：

- [1] Yuxing Wu, Liangsheng Xu, Zhiyuan Yin, et al. Transcription factor VmSeb1 is required for the growth, development, and virulence in *Valsa mali*. *Microbial Pathogenesis*. October 2018;132-138. (IF 2.332)