上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

DNS 试剂(Ghose 法)

简介：

植物体内的碳素营养状况以及农产品的品质形状，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(Ghose 法)主要成分是苯酚、氢氧化钠、酒石酸钾钠、亚硫酸氢钠和 3,5-二硝基水杨酸，可用于测定植物总糖和还原糖的检测，其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。

组成：

DNS 试剂(Ghose 法)，100ml，RT

自备材料：

1、蒸馏水

2、50 ml 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 0.5~3 g，剪碎，加入蒸馏水约 3 ml 匀浆，转移至烧杯或三角瓶中，用 12 ml 蒸馏水冲洗研磨器 2~3 次，洗出液也转移至该容器。

②50℃水浴 30 min，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 50 ml 离心管，4000 g 离心 5 min。

④留取上清液，向沉淀中加入 20 ml 蒸馏水，混匀，再次 4000 g 离心 5min。

⑤留取上清液，将 2 次获得的上清液合并，用蒸馏水定容至 100 ml(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 0.5~3 g，剪碎，加入蒸馏水约 3 ml 匀浆，转移至烧杯或三角瓶中，用 12 ml 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 10 ml 6 M 盐酸溶液，搅拌均匀，煮沸 30 min，并不时搅拌。

③取 2 滴滴加于载玻片上，滴加 1 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 6 M 氢氧化钠溶液，使溶液 pH 至 7.4 左右，用蒸馏水定容至 100 ml，混匀，4000 g 离心 5 min 或过滤，获得上清或滤液。

⑤取上清或滤液 10 ml，用蒸馏水定容至 100 ml，稀释成 10 倍的总糖水解液(提取液)，取 1 ml 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 540 nm 处吸光度，以吸光度为纵坐标，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 1 ml，分别加入 DNS 试剂 2 ml，其余操作同标准曲线的操作，540 nm 处测定各管的吸光度。

计算：

还原糖的百分含量：

还原糖含量(%)=(C×VT)/(m×Vs)×100

总糖的百分含量：

总糖含量(%)=(C×VT)/(m×Vs)×100×10×0.9

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、该试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降，尽量避光保存。

2、稀释盐酸和氢氧化钠溶液时，应小心操作，避免伤人。

3、一般市售的浓盐酸摩尔数约为 11.6M，应稀释至 6M 后使用。

4、待测样本如不能及时测定，应置于 2~8℃保存，3 天内稳定。

5、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。

6、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，×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。

有效期：12 个月有效。