

## 果糖 (Fructose) 含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-F-TDX042 紫外分光法 48 样)

### 一、产品简介:

果糖是一种常见的己酮糖,是葡萄糖的同分异构体,以游离状态大量存在于水果的浆汁和蜂蜜中。本试剂盒提供一种定量、快速、简单、灵敏的检测果糖含量方法,果糖经特异性酶作用后转化为葡萄糖,葡萄糖在己糖激酶等酶复合物作用下,使NADPH的量不断增加,通过检测340nm下该物质的增加量,进而计算得到果糖含量。

### 二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心,使粉剂落入底部,再加 1.4mL 蒸馏水备用。
试剂二	25mL 液体×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉剂 1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心,使粉剂落入底部,再加 1.4mL 蒸馏水备用。
试剂四	液体 1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心,使微量液体落入底部,再加 1.4mL 蒸馏水备用。

### 三、所需仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿 (光径 1cm)、天平、移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

### 四、果糖含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

#### 1、样本制备:

- ① **组织样本:** 0.1g 组织样本 (水分充足的样本建议取 0.2g 左右), 加 1mL 的蒸馏水研磨, 粗提液全部转移到 EP 管中, 12000rpm, 常温离心 10min, 上清液待测。注: 若组织样本蛋白含量很高, 可先进行脱蛋白处理。

【注】: 做实验前可以选取几个样本, 找出适合本次检测样本的稀释倍数 D, 果实样本含糖量较高, 可稀释 20-40 倍; 叶片样本可稀释 2-5 倍。

- ② **细胞样本:** 先收集细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细胞加入 1mL 蒸馏水或 PBS 或生理盐水, 超声波破碎细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm, 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细胞数量( $10^4$ ): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

- ② **液体样品:** 近似中性的澄清液体样本可直接检测; 若为酸性样本则需先用 NaOH(2M)调 PH 值约 7.4, 然后室温静置 30min, 取澄清液体直接检测。

【注】可选取几个样本, 进行不同倍数的稀释, 选取适合本次样本的稀释倍数 D。

#### 2、上机检测:

- ① 紫外分光光度计预热 30min, 设置温度在 25°C, 设定波长到 340nm。  
② 在 1mL 石英比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	25	
试剂一	25	25
试剂二	600	625

试剂三	25	25
混匀，反应20min于340nm处读取各管的A1值（若A值继续增加，需延长反应时间，直至2分钟内的吸光值保持不变）		
试剂四	25	25
混匀，反应20min于340nm处读取各管的A2值（若A值继续增加，需延长反应时间，直至2分钟内的吸光值保持不变）		
$\Delta A = (A2 - A1)$ 测定 - $(A2 - A1)$ 空白。		

- 【注】** 1.检测反应20min后是否反应完全，在准备读值时可改用时间扫描：3min，间隔1min，依此判读反应是否完全。然后再读取各测定管的A值。  
 2.若A2值超过1.5，可以减少样本加样量：如10 $\mu$ L，则试剂二相应增加；或对样本进行稀释，稀释倍数D代入计算公式计算。  
 3.若 $\Delta A$ 的差值较小，可增加样本量：如50 $\mu$ L，则试剂二相应减少。

## 五、结果计算：

### 1、按照质量计算：

$$\text{果糖含量(mg/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A \div W \times D$$

### 2、按照细胞数量计算：

$$\text{果糖含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 800.7 \times \Delta A \div 500 \times D$$

### 3、按照体积计算：

$$\text{果糖含量(mg/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div V \times D = 0.8 \times \Delta A \times D$$

$\epsilon$  ---NADPH 的摩尔消光系数， $6.3 \times 10^3$  L/mol/cm；

d---1cm；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.025mL； V2---反应

总体积， $7 \times 10^{-4}$  L；

Mr---果糖分子量，180.16；

W---样本鲜重，g；

500---细胞数量，万；

D---稀释倍数，未稀释即为1。