

## 葡萄糖和果糖含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-F-TDX043 分光法 48 样)

### 一、产品简介:

本试剂盒提供一种定量、快速、灵敏的检测葡萄糖和果糖含量的方法,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,进而分别计算得到葡萄糖和果糖含量。

### 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℃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	30mL 液体×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂 1 支	-20℃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℃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、可调式移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

### 四、葡萄糖和果糖含量检测:

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 **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℃,设定波长到 340nm,蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温(25℃),在 1mL 石英比色皿中依次加入:

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
混匀, 5min 后于 340nm 处读取各管的 A1 值		
试剂三	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)		
试剂四	25	25
混匀, 反应 20min 于 340nm 处读取各管的 A3 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)		
ΔA 葡萄糖=(A2-A1)测定-(A2-A1)空白,		

$$\Delta A_{\text{果糖}} = (A_3 - A_2)_{\text{测定}} - (A_3 - A_2)_{\text{空白}}$$

- 【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A3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：

$$\text{葡萄糖}(\text{mg/g 鲜重}) = [\Delta A_{\text{葡萄糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V_1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A_{\text{葡萄糖}} \div W \times D$$

$$\text{果糖}(\text{mg/g 鲜重}) = [\Delta A_{\text{果糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V_1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A_{\text{果糖}} \div W \times D$$

### 2、按照体积计算：

$$\text{葡萄糖}(\text{mg/mL}) = [\Delta A_{\text{葡萄糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div V_1 \times D = 0.8 \times \Delta A_{\text{葡萄糖}} \times D$$

$$\text{果糖}(\text{mg/mL}) = [\Delta A_{\text{果糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div V_1 \times D = 0.8 \times \Delta A_{\text{果糖}} \times D$$

- |                                                           |                            |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------|
| $\epsilon$ --- NADPH 的摩尔消光系数， $6.3 \times 10^3$ L/mol/cm; | $d$ --- 光径，1cm;            |
| $V$ --- 加入提取液体积，1mL;                                      | $V_1$ --- 加入样本体积，0.025mL;  |
| $V_2$ --- 反应总体积， $7 \times 10^{-4}$ L;                    | $Mr$ --- 葡萄糖、果糖分子量，180.16; |
| $W$ --- 样本鲜重，g;                                           | $D$ --- 稀释倍数，未稀释即为1。       |