

果糖 (fructose) 含量 (间苯二酚法) 试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TDX041 微板法 96 样)

一、产品简介:

果糖是一种最为常见的己酮糖,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。本试剂盒检测果糖,是通过果糖与间苯二酚反应,生成有色物质,在 480nm 下有特征吸收峰,进而求得待检测样本果糖含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 1 瓶	4°C保存	临用前加入 40mL 浓盐酸
试剂二	液体 1 瓶	4°C保存	
标准品	粉体 1 支	室温干燥保存	准确称取2mg标准品(果糖)至一新EP管中,再加2mL蒸馏水充分溶解即得1mg/mL标准品备用。(该标准品粉体开封后也需干燥保存和使用)。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、可调式移液器、研钵、乙醇、蒸馏水。

四、果糖含量的测定:

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!

建议:可取两个样本做适当梯度的稀释(如 2-5 倍),确定适合本次实验的稀释倍数 D。

1、样本制备

① 组织样本:

称取 0.1g 样本(若是干样,如烘干烟叶等可取 0.05g;若是水分充足的样本可取 0.2g),先加入 0.8mL 的 80%乙醇(自备:取 80mL 乙醇溶于 20mL 蒸馏水中),冰浴匀浆,倒入有盖离心管中,再用 80%乙醇冲洗研钵并转移至同一 EP 管中,使 EP 管中粗提液终体积定容为 1.5mL(若用自动研磨机可直接加入 1.5mL 的 80%乙醇研磨);置 50°C水浴 20min(封口膜缠紧,防止液体散失,且间隔 2min 振荡混匀一次),冷却后(若有损失,可加 80%乙醇补齐至 1.5mL),12000rpm,室温离心 10min,取上清液备用。

② 液体样本:

澄清的液体样本直接检测,若浑浊则需 12000rpm,室温离心 10min,取上清液备用。

2、上机检测

① 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 480nm。

② 在 EP 管中依次加入下列试剂:

试剂 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	30		
标准品		30	
蒸馏水			30
试剂一	210	210	210
试剂二	60	60	60

混匀，95°C水浴反应 30min（可用封口膜缠紧，以防止水分散失），冷却后取 200 μ L 至 96 孔板中，在 480nm 分别读取吸光值 A， $\Delta A=A$ 测定-A 空白。

【注】：如果 ΔA 大于 1，需要将样本用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数 D。

五、结果计算：

1、按照重量计算：

$$\begin{aligned} \text{果糖含量(mg/g 重量)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.5 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D \end{aligned}$$

2、按液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{果糖含量(mg /mL 液体)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D \\ &= \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \end{aligned}$$

C 标准---果糖标准品浓度，1mg/mL；

V---加入提取液体积，1.5mL；

V1---加入样本积，0.03mL；

W---样本鲜重，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。