

## 果糖（Fructose）含量检测试剂盒说明书

（货号：G0530F 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℃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℃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μL×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、移液器、研钵、离心机、水浴锅、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】：A. 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。

B. 若离心后的上清液（高脂或高蛋白样本如动物组织等）比较浑浊，可取出上清液转移至新 EP 管中再次或多次离心后取上清液测定；也可取上清液于 95℃孵育 5-10min 后离心取上清液测定。

- 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℃，设定波长到 340nm。
- ② 试剂解冻至室温（25℃），或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。
- ③ 试剂一和二和三可按照 25:600:25 比例配成混合液（一枪加 650μL 该混合液）（该混合液用多少配多少，现配现用）。
- ④ 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, 室温 (25°C) 反应20min于340nm读取A1值 (若A1值继续增加, 需延长反应时间, 直至2分钟内变化值在0.1内)		
试剂四	25	25
混匀, 室温 (25°C) 反应20min于340nm读取A2值 (若A2值继续增加, 需延长反应时间, 直至2分钟内变化值在0.1内), $\Delta A = (A2 - A1) - \text{测定} - (A2 - A1) \text{空白}$ 。		

【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A2值超过1.5, 可以减少样本加样量: 如10μL, 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 $\Delta A$ 小于0.01, 可增加样本量: 如100μL, 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,  $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ;

$d$  --- 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,  $7 \times 10^{-4} \text{ L}$ ;

$Mr$  --- 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。