

## 果糖（fructose）含量（间苯二酚法）试剂盒说明书

### （分光法 48 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 35 mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 mg×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：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、可调式移液器、研钵、乙醇。

#### 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℃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 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 480nm，蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入下列试剂：

试剂（ $\mu\text{L}$ ）	测定管	标准管 （仅做一次）	空白管 （仅做一次）
样本	90		
标准品		90	
蒸馏水			90
试剂一	630	630	630
试剂二	180	180	180

混匀，95°C水浴反应 30min（可用封口膜缠紧，以防止水分散失），冷却全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，在 480nm 分别读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

【注】：如果 $\Delta A$  大于 2，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、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{果糖含量(mg/g 重量)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 1.5 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

### 2、按液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{果糖含量(mg/mL 液体)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D \\ &= \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

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，0.09mL；

W---样本鲜重，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。