

果糖（fructose，FT）含量（间苯二酚法）试剂盒说明书
（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
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂三	粉剂 0.5g×1 瓶	常温保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃ 保存	若重新做标曲，则用到该试剂

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、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，加入 0.5mL 提取液，适当研磨后快速转移到有盖离心管中；置于 80℃ 水浴锅中 10min（可用封口膜缠紧，以防止水分散失），振荡 3~5 次，冷却后，10000rpm，常温离心 10min，取上清；加入少量（约 3mg）试剂三，80℃ 脱色 30min（可用封口膜缠紧，以防止水分散失）；再加入 0.5mL 提取液，10000rpm，常温离心 10min，取上清液测定。

② 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测

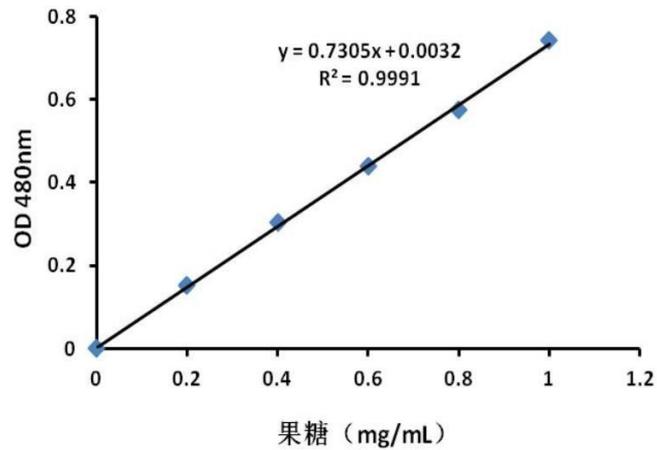
① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 480nm。

② 在 EP 管中依次加入下列试剂：

试剂（ μL ）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	30	
蒸馏水		30
试剂一	210	210
试剂二	60	60
混匀，95℃ 水浴反应 30min（可用封口膜缠紧，以防止水分散失），冷却后取 200 μL 至 96 孔板中，在 480nm 分别读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y = 0.7305x + 0.0032$ ；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为 ΔA 。



2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{果糖 (mg/g 鲜重)} &= [(\Delta A - 0.0032) \div 0.7305 \times V1] \div (W \times V1 \div V \times D) \\ &= 1.37 \times (\Delta A - 0.0032) \div W \times D。 \end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{果糖 (mg/ml)} &= [(\Delta A - 0.0032) \div 0.7305 \times V1] \div V1 \times D \\ &= 1.37 \times (\Delta A - 0.0032) \times D \end{aligned}$$

V----加入提取液体积，1mL；

V1----加入样本积，0.03mL；

W----样本鲜重，g；

D----稀释倍数。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1mL 蒸馏水（母液需在两天内用且-20℃保存）。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。