

# 果糖（Fructose）含量检测试剂盒说明书

（微板法 96 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 1.1mL 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 1.1mL 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 1.1mL 蒸馏水备用。

## 三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、天平、可调式移液器、研钵、离心机、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：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 **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。

- ③ **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 酶标仪预热 30min，设置温度在 25℃，设定波长到 340nm。
- ② 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
试剂一	10	10
试剂二	160	170
试剂三	10	10
混匀, 反应20min于340nm处读取各管的A1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	10	10
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), $\Delta A=(A2-A1)$ 测定-(A2-A1)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5μL, 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50μL, 则试剂二相应减少。

## 五、结果计算:

### 1、按照质量计算:

$$\text{果糖含量(mg/g 鲜重)}=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \times D = 1.1439 \times \Delta A \div W \times D$$

### 2、按照细胞数量计算:

$$\text{果糖含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 1143.9 \times \Delta A \div 500 \times D$$

### 3、按照体积计算:

$$\text{果糖含量(mg/mL)}=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div V1 \times D = 1.1439 \times \Delta A \times D$$

$\epsilon$  ---NADPH 的摩尔消光系数,  $6.3 \times 10^3$  L/mol/cm;

d---0.5cm;

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---加入样本体积,

0.01mL; V2---反应总体积,  $2 \times 10^{-4}$  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。