

果糖 (FT) 试剂盒 (间苯二酚比色法) 微板法

使用说明书

产品货号: BP10265W

注意: 请在试剂盒保质期内使用, 具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用, 不能用于临床诊断。

检测范围: 0.001-2mg/mL

灵敏度: 0.001mg/mL

有效期: 6 个月

保存温度: 2-8℃和常温

检测原理:

在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，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。

注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
3. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
4. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/42S）	规格（96T/90S）	保存条件
提取液	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	12.5mL×1 瓶	25mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	4mL×1 瓶	8mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	常温
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、恒温箱、水浴锅、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围**不等同于样本中待测物的浓度范围，建议实验前选择2-3个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.001-2mg/mL，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **果糖提取**：称取约 0.1g 样本，常温研碎，加入 1mL 提取液，适当研磨后快速转移到离心管中，置于 80℃ 水浴锅中 10min，振荡 3~5 次，冷却后，加入一药匙（约 50-100mg）试剂三，震荡混匀后 80℃ 水浴脱色 30min，取出冷却后 4000 g，常温离心 10min，取上清液测定。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液的配制：**临用前取一瓶标准品加入 3mL 蒸馏水，溶解为 1mg/mL 的标准品母液。把标准品母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0mg/mL、0.2mg/mL、0.4mg/mL、0.6mg/mL、0.8mg/mL、1mg/mL。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从对应浓度的标准品溶液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥
标准品浓度(mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
1mg/mL 标准品(μ L)	0	100	200	300	400	500
蒸馏水(μ L)	500	400	300	200	100	0

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤：

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 480nm。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入）：

试剂名称(μ L)	标准管	测定管
不同浓度标准品	30	
样本		30
试剂一	210	210
试剂二	60	60
务必混匀并离心 2s，95℃水浴反应 30min（推荐使用螺旋管，以防止水分散失），冷却后取 200 μ L 至 96 孔板中，于 480nm 处测定各管 OD 值。		

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$

2. 果糖含量(mg/mg prot) = $(\Delta A - b) \div a \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div C_{\text{pr}} \times N = (\Delta A - b) \div a \div C_{\text{pr}} \times N$

此法需要自行测定蛋白浓度。

3. 果糖含量(mg/g 鲜重) = $(\Delta A - b) \div a \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \times N = (\Delta A - b) \div a \div W \times N$

注：

y: 标准品 OD 值-空白孔 OD 值
(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

N: 样本的稀释倍数

ΔA : 测定孔 OD 值-空白孔 OD 值
(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.03mL

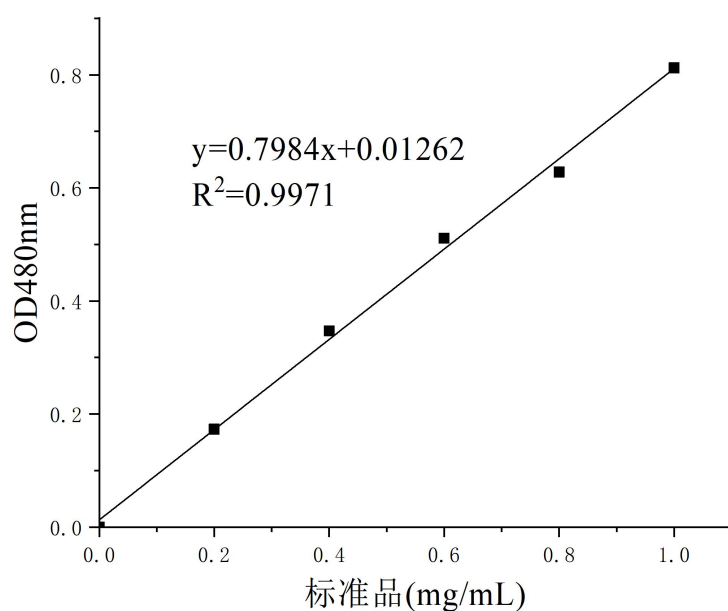
$V_{\text{提}}$: 加入提取液体积, 1mL

W: 样本鲜重, g

C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL

参考曲线:

$y=0.7984x+0.01262$, $R^2=0.9971$, x 是标准品浓度 (mg/mL), y 是 ΔA 。



注意：标准曲线仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。