

果糖（fructose）含量（间苯二酚法）试剂盒说明书

（货号：BP10265W 微板法 96 样 有效期：9 个月）

一、指标介绍：

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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 1 瓶	4℃保存	1. 临用前加入 40mL 浓盐酸； 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 1 瓶	4℃避光保存	
标准品	粉体 1 支	室温干燥保存	1. 准确称取 2mg 标准品（果糖）至一新 EP 管中； 2. 加入 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）； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、乙醇、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

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、样本提取

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、检测步骤

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	标准管 （仅做一次）	空白管 （仅做一次）
样本	30		
标准品		30	

蒸馏水			30
试剂一	210	210	210
试剂二	60	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 200μL 至 96 孔板中，在 480nm 分别读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

【注】：如果 ΔA 大于 1，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、按照重量计算：

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

2、按液体体积计算：

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

3、按照蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{果糖含量}(\text{mg/mg prot}) &= (\text{C 标准} \times V_1) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{Cpr} \times V_1 \div V) \times D \\ &= 1.5 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{Cpr} \times D \end{aligned}$$

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，0.03mL；

W---样本鲜重，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL）；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。