

果糖（Fructose）含量检测试剂盒说明书

（货号：BP10326F 紫外法 48 样 有效期：3 个月）

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	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使试剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入 1.4mL 蒸馏水备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	35mL 液体×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂 1 支	-20℃保存	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使试剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入 1.4mL 蒸馏水备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂四	液体 1 支	-20℃保存	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使微量液体落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入 1.4mL 蒸馏水备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、所需仪器和用品：

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）、1ml 石英比色皿、离心管、紫外分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

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！

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。

- ② **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 紫外分光光度计预热 30min，设置温度在 25℃，设定波长到 340nm。
- ② 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管（仅做一次）
样本	25	
试剂一	25	25
试剂二	600	625
试剂三	25	25
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	25	25
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） $\Delta A = (A2 - A1)_{\text{测定}} - (A2 - A1)_{\text{空白}}$		

【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10μL，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ΔA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：

$$\text{果糖含量(mg/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A \div W \times D$$

2、按照细胞数量计算：

$$\text{果糖含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 800.7 \times \Delta A \div 500 \times D$$

3、按照体积计算：

$$\text{果糖含量(mg/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div V \times D = 0.8 \times \Delta A \times D$$

4、按照蛋白浓度计算：

$$\text{果糖含量(mg/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (Cpr \times V1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A \div Cpr \times D$$

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

d---1cm；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.025mL；V2---反应

总体积， $7 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；

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；

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。