

Fructose Content Kit

果糖含量检测试剂盒（HK 酶法）说明书

货号:BN72266 | 方法: 紫外分光法 | 规格: 48 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 1.4mL 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 1.4mL 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 1.4mL 蒸馏水备用。

三、所需仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、天平、移液器、研钵、离心机、水浴锅、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:

- 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】: A. 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。
B. 若离心后的上清液（高脂或高蛋白样本如动物组织等）比较浑浊，可取出上清液转移至新 EP 管中再次或多次离心后取上清液测定；也可取上清液于 95℃孵育 5-10min 后离心取上清液测定。
- 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。
- 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:

- 紫外分光光度计预热 30min，设置温度在 25℃，设定波长到 340nm。
- 试剂解冻至室温（25℃），或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。
- 试剂一和二和三可按照 25:600:25 比例配成混合液（一枪加 650μL 该混合液）（该混合液

用多少配多少，现配现用）。

④ 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，室温（25℃）反应20min于340nm读取A1值（若A1值继续增加，需延长反应时间，直至2分钟内变化值在0.1内）		
试剂四	25	25
混匀，室温（25℃）反应20min于340nm读取A2值（若A2值继续增加，需延长反应时间，直至2分钟内变化值在0.1内）， $\Delta A = (A2 - A1)$ 测定 - $(A2 - A1)$ 空白。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

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

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：

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

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。