

葡萄糖和果糖含量检测试剂盒说明书

(货号: BN72419 微板法 96 样)

一、产品简介:

本试剂盒提供一种定量、快速、灵敏的检测葡萄糖和果糖含量的方法, 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, 进而分别计算得到葡萄糖和果糖含量。

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、水浴锅、离心机、蒸馏水。

四、葡萄糖和果糖含量检测:

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。
- 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。

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 试剂解冻至室温 (25℃), 或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。
- ③ 试剂一和二可按照 10:160 比例配成混合液 (一枪加 170μL 该混合液) (该混合液用多少配多少, 现配现用)。
- ④ 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
混匀, 室温 (25℃) 下, 5min后于340nm处读取各管A1值		
试剂三	10	10
混匀, 室温 (25℃) 下, 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分钟内变化值在0.1内)		
试剂四	10	10
混匀, 室温 (25℃) 下, 反应20min于340nm处读取各管的A3值 (若A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), $\Delta A_{\text{葡萄糖}} = (A_2 - A_1)_{\text{测定}} - (A_2 - A_1)_{\text{空白}}$,
 $\Delta A_{\text{果糖}} = (A_3 - A_2)_{\text{测定}} - (A_3 - A_2)_{\text{空白}}$ 。

五、结果计算:

1、按照质量计算:

葡萄糖(mg/g 鲜重) = $[\Delta A_{\text{葡萄糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V_1 \div V) \times D = 1.1439 \times \Delta A_{\text{葡萄糖}} \div W \times D$

果糖(mg/g 鲜重) = $[\Delta A_{\text{果糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V_1 \div V) \times D = 1.1439 \times \Delta A_{\text{果糖}} \div W \times D$

2、按照体积计算:

葡萄糖(mg/mL) = $[\Delta A_{\text{葡萄糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div V_1 \times D = 1.1439 \times \Delta A_{\text{葡萄糖}} \times D$

果糖(mg/mL) = $[\Delta A_{\text{果糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div V_1 \times D = 1.1439 \times \Delta A_{\text{果糖}} \times D$

ϵ ---NADPH 的摩尔消光系数, 6.3×10^3 L/mol/cm;

d---光径, 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, 2×10^{-4} L;

Mr---葡萄糖、果糖分子量, 180.16;

W---样本鲜重, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。