

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0415

Size: 100T/96S

植物组织果糖含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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，能与葡萄糖结合生成蔗糖。果糖是最甜的单糖，广泛应用于食品、医药、保健品生产中。

二、测定原理:

在酸性条件下果糖与间苯二酚反应，生成有色物质，在 480nm 下有特征吸收峰。

三、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×2 瓶	4℃保存	
试剂一	5mg/mL 标准液 1mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂 0.5g×1 瓶	常温保存	

五、操作步骤:

● 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有盖离心管中; 置于 80°C 水浴锅中 10min (盖紧, 以防止水分散失) 振荡 3~5 次, 冷却后, 4000g, 常温离心 10min, 取上清; 加入少量 (约 2mg) 试剂四, 80°C 脱色 30min (盖紧, 以防止水分散失) 再加入 1mL 提取液, 4000g, 常温离心 10min, 取上清液测定。

● 测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 480nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定, (在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂)

试剂 (μL)	空白管	标准管	测定管
样本			30
试剂一		30	
蒸馏水	30		
试剂二	210	210	210
试剂三	60	60	60

混匀, 80°C 水浴内反应 10min (盖紧, 以防止水分散失), 冷却后取 200 μL 至微量玻璃比色皿或 96 孔板中测定 480nm 处光吸收值, 记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管, 并计算 ΔA 测定 = A 测定管 - A 空白管、 ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管。

六、果糖含量计算:

$$1、\text{果糖含量 (mg/mg prot)} = C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}})$$

$$= 5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

$$2、\text{果糖含量 (mg/g 鲜重)} = C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样总}} \div W$$

$$= 10 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

C 标准管：标准管浓度，5mg/mL；V 样总：加入提取液体积，2mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g。

注：如果测定管的 OD 值大于 0.4，请用提取液稀释样品。