

## 果糖（fructose，FT）含量试剂盒说明书

### 微量法 100 管/96 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 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。

#### 测定原理：

果糖与间苯二酚反应，生成有色物质，在 480nm 下有特征吸收峰。

#### 所需的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、蒸馏水

#### 试剂的组成和配制：

提取液：液体 100ml×1 瓶，4℃ 保存；

试剂一：1mg/mL 标准液 10mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：液体 25ml×1 瓶，4℃ 保存；

试剂三：液体 8ml×1 瓶，4℃ 保存；

试剂四：粉剂 0.5g×1 瓶，常温保存。

#### 果糖提取：

称取 0.1~0.2g 样本，常温研碎；加入 0.5mL 提取液，适当研磨后快速转移到有盖离心管中；置于 80℃ 水浴锅中 10min（盖紧，以防止水分散失），振荡 3~5 次，冷却后，4000g，25℃ 离心 10min，取上清；加入少量（约 2mg）试剂四，80℃ 脱色 30min（盖紧，以防止水分散失）；再加入 0.5mL 提取液，4000g，25℃ 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 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂（ $\mu\text{L}$ ）	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，95℃ 水浴反应 30min（盖紧，以防止水分散失），冷却后取 200 $\mu\text{L}$  至微量石英比色皿或 96 孔板中测定 480nm 处光吸收值，空白管、标准管和测定管分别记为 A1、A2 和 A3。空白管和标准管只要做一管。

#### 果糖含量计算：

1、果糖含量(mg/mg prot)=(C 标准管 $\times$ V1) $\times$ (A3-A1) $\div$ (A2-A1) $\div$ (V1 $\times$ Cpr)=(A3-A1) $\div$ (A2-A1) $\div$ Cpr

此法需要自行测定蛋白浓度。

2、果糖含量(mg/g 鲜重)=(C 标准管 $\times$ V1) $\times$ (A3-A1) $\div$ (A2-A1) $\div$ (W $\times$ V1 $\div$ V2)=(A3-A1) $\div$ (A2-A1) $\div$ W。

C 标准管：标准管浓度，1mg/mL；V1：加入样本体积，0.03mL；V2：加入提取液体积，1mL；

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g。

注意: 最低检测限为 100ng/g 鲜重或 1ng/mg prot