

果糖（fructose，FD）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℃避光保存；

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（ $\mu$ 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°C水浴反应30min（盖紧，以防止水分散失），冷却后取200 $\mu$ 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：

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

此法需要自行测定蛋白浓度。

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

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**