

葡萄糖和果糖含量检测试剂盒说明书

(分光法 48 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 1.4mL 蒸馏水备用
试剂二	30mL 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、可调式移液器、研钵、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。注：若组织样本蛋白含量很高，可先进行脱蛋白处理。

【注】：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。

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。

【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：

① 紫外分光光度计预热 30min，设置温度在 25℃，设定波长到 340nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25℃），在 1mL 石英比色皿中依次加入：

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
混匀，5min后于340nm处读取各管的A1值		
试剂三	25	25
混匀，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分钟内的吸光值保持不变）		
试剂四	25	25
混匀，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分钟内的吸光值保持不变）		
ΔA葡萄糖=(A2-A1)测定-(A2-A1)空白，		

$$\Delta A_{\text{果糖}} = (A_3 - A_2)_{\text{测定}} - (A_3 - A_2)_{\text{空白}}$$

- 【注】1.检测反应20min后是否反应完全，在准备读值时可改用时间扫描：3min，间隔1min，依此判读反应是否完全。然后再读取各测定管的A值。
2.若A3值超过1.5，可以减少样本加样量：如10 μ L，则试剂二相应增加；或对样本进行稀释，稀释倍数D代入计算公式计算。
3.若 ΔA 的差值较小，可增加样本量：如50 μ L，则试剂二相应减少。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

$$\text{葡萄糖}(\text{mg/g 鲜重}) = [\Delta A_{\text{葡萄糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V_1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A_{\text{葡萄糖}} \div W \times D$$

$$\text{果糖}(\text{mg/g 鲜重}) = [\Delta A_{\text{果糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V_1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A_{\text{果糖}} \div W \times D$$

2、按照体积计算：

$$\text{葡萄糖}(\text{mg/mL}) = [\Delta A_{\text{葡萄糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div V_1 \times D = 0.8 \times \Delta A_{\text{葡萄糖}} \times D$$

$$\text{果糖}(\text{mg/mL}) = [\Delta A_{\text{果糖}} \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3] \div V_1 \times D = 0.8 \times \Delta A_{\text{果糖}} \times D$$

ϵ ---NADPH 的摩尔消光系数， 6.3×10^3 L/mol/cm； d---光径，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， 7×10^{-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。