

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℃ 避光保存;

试剂四: 粉剂 12g×1 瓶, 常温保存。

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离心管中, 置于 80℃ 水浴锅中 10min, 振荡 3~5 次, 冷却后, 加入一药匙 (约 50-100mg) 试剂四, 震荡混匀后 80℃ 水浴脱色 30min, 取出冷却后 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 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, 95℃ 水浴反应 30min (盖紧, 以防止水分散失), 冷却后取 200μL 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×V1)×(A3-A1)÷(A2-A1)÷(V1×Cpr)=(A3-A1)÷(A2-A1)÷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×V1)×(A3-A1)÷(A2-A1)÷(W×V1÷V2)=(A3-A1)÷(A2-A1)÷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