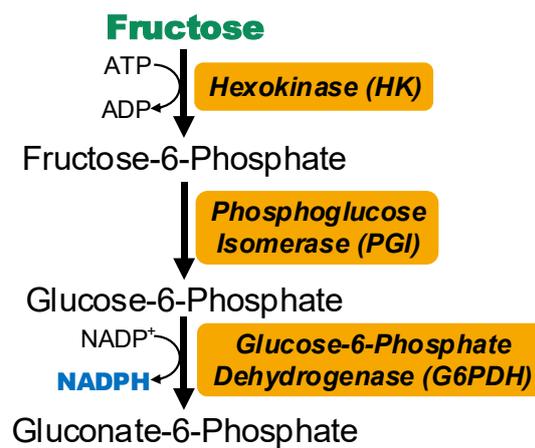




果糖含量检测试剂盒 (HK 酶法)

Fructose Content Assay Kit (HK Enzymatic Method)



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



果糖含量检测试剂盒（HK 酶法）

Fructose Content Assay Kit (HK Enzymatic Method)

一、产品描述

果糖是一种最为常见的己酮糖，是葡萄糖的同分异构体，能与葡萄糖结合生成蔗糖，主要以游离状态 D-果糖形式存在于水果的浆汁和蜂蜜中，也在某些植物中被发现。果糖含量是控制产品甜度、风味以及优化生产成本的核心依据，并且果糖独特的代谢途径与一些健康问题具有潜在关联，精确测定食品中的果糖含量是指导合理膳食以满足特定人群健康管理需求的必要基础，果糖含量的准确测定有助于为相关代谢研究提供可靠的数据支持。

果糖在己糖激酶（HK）催化下与 ATP 发生磷酸化反应，生成果糖-6-磷酸（F6P），随后在磷酸葡萄糖异构酶（PGI）作用下转化为葡萄糖-6-磷酸（G6P）；后者在葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（G6PDH）催化下氧化生成 6-磷酸葡萄糖酸，同时伴随辅酶 NADP⁺还原为 NADPH，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测果糖的含量。本方法作为间苯二酚法的替代方法，可有效避免蔗糖等双糖物质的干扰，且设置对照组用于去除样本中葡萄糖的含量，可以准确测定果糖含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	粉剂×1 瓶	-20°C避光保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 4 周，避免反复冻融)
试剂二	液体 40 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂四	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂五	液体 15 μL×1 支	4°C保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：蒸馏水体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，冰浴匀浆，12000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：蒸馏水体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），12000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

③血清（浆）、培养液等液体样本：接近中性的液体可直接检测或适当稀释后再进行检测；若为酸性样本则需要先用 2 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 7.4 左右，12000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

注：若离心后的上清液比较浑浊，可适当增加离心转速和时间或取上清液后再次离心后取上清液。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm。

②检测工作液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂三：试剂四=1:1 的体积比配制。

③试剂五应用液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂五：蒸馏水=1:160 的体积比配制。

④在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
待测样本	10	10
试剂一	10	10
试剂二	160	160
检测工作液	10	10
充分混匀，25°C 准确反应 20 min		
试剂五应用液	10	-
蒸馏水	-	10
充分混匀，25°C 准确反应 20 min		

吸光值测定：测定 340 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样本均需设一个对照组。

3.果糖含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{果糖含量 (mg/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times Mr \times D}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}}} = \frac{1.159 \times \Delta A \times D}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{果糖含量 (mg/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times Mr \times D}{\epsilon \times d \times Cpr \times V_{\text{样}}} = \frac{1.159 \times \Delta A \times D}{Cpr}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{果糖含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times Mr \times D}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}}} = \frac{1.159 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{果糖含量 (mg/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times Mr \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}}} = 1.159 \times \Delta A \times D$$

注释： V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.01 mL；V 样总：待测样本总体积，1 mL；ε：NADPH 的摩尔消光系数， 6.22×10^3 mL/mmol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；W：样本质量，g；Cpr：待测样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；Mr：果糖相对分子质量，180.16；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 A 测定大于 1.0，建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当增加反应体系中待测样本添加量（如待测样本由 10 μL 增加至 20 μL，同时试剂二相应减少，测定组和对照组同步修改）或制备更高浓度的待测样本后再进行检测，计算时相应修改；

②若吸光值超过 3，建议检查 96 孔板是否为 96 孔 UV 板，普通 96 孔板会因材质问题造成吸光值超出设备量程；

③反应体系中试剂不能按比例配制为混合液使用，必须按反应体系顺序依次加入；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

