血中果糖（Fructose）含量检测试剂盒说明书

（货号：G0597F 紫外分光法 48 样）

一、产品简介：

果糖是一种常见的己酮糖，是葡萄糖的同分异构体。本试剂盒提供一种定量、快速、简单、灵敏的检测果糖含量方法，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，进而计算得到果糖含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂 A	粉体 mg×2 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，每支再加 0.6mL 的蒸馏水溶解。
试剂 B	粉体 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 0.65mL 的蒸馏水溶解。
试剂 C	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
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	25mL 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、移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

四、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：

血样样本（建议先选取 2 个样本做预测定，依据结果判断是否采用除葡萄糖步骤）：

1-1：澄清的血样样本直接测定；

1-2：澄清的血样样本但含有高背景的葡萄糖含量即出现注意事项中第 2 项情况，可取 100-200μL 血样样本至新的 EP 管中，依次加入 20μL 的试剂 A 和 10μL 试剂 B 和 70μL 试剂 C 混匀（此时稀释倍数记为 D1），置于室温（25℃）孵育 60min（间隔 10-15min 开盖一次（开盖后摇晃混匀几下并于开盖状态下静止约 2min），孵育结束后于 95 度煮沸 10min，至室温后于 12000rpm 离心 10min，取上清液作为样本待测定。

1-3：若血样样本浑浊且含有高背景的葡萄糖含量即出现注意事项中第 2 项情况，可取 100μL 血样样本至新的 EP 管中，加 200μL 无水乙醇，混匀静止 5min，12000rpm 离心后取全部上清液至一新的 EP 管中，依次加入 20μL 的试剂 A 和 10μL 试剂 B 和 70μL 试剂 C 混匀（此时稀释倍数记为 D2），置于室温（25℃）孵育 60min（间隔 10-15min 开盖一次（开盖后摇晃混匀几下并于开盖状态下静止约 2min），孵育结束后于 95 度煮沸 10min，至室温后于 12000rpm 离心 10min，取上清液作为样本待测定。

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。

② 若样本上清液是经过除葡萄糖处理的，可先做几个预测定，依据结果考虑是否增加样本上样量。

③ 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）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
试剂三	25	25
混匀，反应20min于340nm处读取各管的A1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） ΔA=(A2-A1)测定-(A2-A1)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A1值大于1.3且ΔA差值低于0.01，则说明样本中含有高背景葡萄糖，但果糖含量偏低；可先对样本进行除葡萄糖处理，再增加样本加样量V1：如40μL，则试剂二相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

3.若A1值低于1.3，但ΔA差值低于0.01，可增加样本加样量V1：如40μL，则试剂二相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

4.若A1低于1.0，A2值超过1.8，可以减少样本加样量：如5μL，则试剂二相应增加；或对样本用蒸馏水进行稀释，稀释倍数D代入计算公式计算。

五、结果计算：

1、按照血样样本计算：

1-1的计算公式：果糖含量(mg/mL)=[ΔA÷(ε×d)×V2×Mr×10^3]÷V1×D=0.8×ΔA×D

1-2的计算公式：果糖含量(mg/mL)=[ΔA÷(ε×d)×V2×Mr×10^3]÷V1×D1×D

=0.8×ΔA×D1×D

1-3的计算公式：果糖含量(mg/mL)=[ΔA÷(ε×d)×V2×Mr×10^3]÷V1×D2×D

=0.8×ΔA×D2×D

ε ---NADPH 的摩尔消光系数，6.3×10^3 L/mol/cm；　　d---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---果糖分子量，180.16；

D---所有经过处理或未处理的血样加入 96 孔板测定时的稀释倍数，未稀释即为 1；

D1---若取 100μL 血样除葡萄糖则稀释倍数为 200/100=2；若取 200μL 则稀释倍数为 1.5；

D2---若取 100μL 血样由浑浊变澄清以及除糖则稀释倍数为 400/100=4。