

糖类三合一（果糖/蔗糖/葡萄糖）检测套装（微量法）

货 号：PMK1958BKM
规 格：48T/48S 96T/96S
检测方法：比色法
储存条件：4℃避光保存 12 个月

💡 建议正式实验前，选取 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验，如果样本吸光值不在检测范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

一、产品简介

研究背景：普美生物的糖类三合一（果糖/蔗糖/葡萄糖）检测套装提供了用于常规糖类检测最常见三种指标：果糖、蔗糖、葡萄糖的检测试剂。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。蔗糖是植物光合作用的主要产物，也是糖分运输和储藏的主要形式。因此，测定蔗糖含量对于植物糖代谢具有重要意义。葡萄糖是一种主要的生物燃料源，用于产生通用的能量分子 ATP。葡萄糖不仅是细胞能量代谢的主要底物，而且其代谢中间产物是生物合成的重要底物。葡萄糖水平异常与几种代谢功能异常有关，如低血糖、高血糖和糖尿病。就哺乳动物而言，葡萄糖不仅是大脑神经系统、肌肉、脂肪组织等的唯一能源，而且与还原性辅酶、乳糖和乳脂的合成密切相关。由于葡萄糖在代谢中的重要性，葡萄糖水平是许多代谢紊乱的关键诊断参数。葡萄糖水平异常与几种代谢功能异常有关，如低血糖、高血糖和糖尿病。

检测原理：在酸性条件下果糖与间苯二酚反应，生成有色物质，在 480nm 下有特征吸收峰。在一定的浓度范围内，果糖含量与 480nm 吸光度成线性关系，测 480nm 处的吸光值，即可计算样品果糖含量。

样本中的蔗糖先用碱与样品共热，破坏其中的还原糖。然后在酸性条件下将蔗糖水解生成葡萄糖和果糖，果糖进一步与间苯二酚反应，生成有色物质，在 480nm 下有特征吸收峰，蔗糖含量与颜色的深浅成正比。

葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化生成葡萄糖酸，并产生过氧化氢；过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林和酚缩合成红色醌类化合物，其最大吸收峰在 505nm，在一定的浓度范围内葡萄糖含量与 505nm 吸光度成线性关系，根据标准曲线即可计算出样品中葡萄糖的含量。

检测范围和灵敏度：

果糖检测范围：0.078-5mg/mL（标准品浓度） 灵敏度：0.078mg/mL（标准品浓度）

蔗糖检测范围：0.078-5mg/mL（标准品浓度） 灵敏度：0.039mg/mL（标准品浓度）

葡萄糖检测范围：0.0625-4mmol/L（标准品浓度） 灵敏度：0.0156mmol/L（标准品浓度）

 **检测意义：**食品品质控制、人体糖代谢功能评估与疾病诊断、营养学研究。

 **适用样本：**动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）、培养上清、果汁、尿液、饮料等液体样本。

二、产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
果糖/蔗糖试剂一	25mL	50mL	4℃保存
果糖/蔗糖试剂二	7mL	14mL	4℃避光保存
果糖/蔗糖试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	常温保存
蔗糖试剂四	1mL	2mL	4℃保存
葡萄糖试剂一	6mL	12mL	4℃避光保存
葡萄糖试剂二	6mL	12mL	4℃避光保存
果糖标准品 (10mg 果糖)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存
蔗糖标准品 (10mg 蔗糖)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存
葡萄糖标准品	1mL	1mL	4℃保存

三、需自备的仪器和用品

☐ 酶标仪或可见光分光光度计（能测 480nm 和 505nm 处的吸光度）及水浴锅、96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、低温离心机、制冰机、去离子水、PBS、匀浆器。（如果是组织样本）

四、试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

果糖/蔗糖试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

果糖/蔗糖试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

果糖/蔗糖试剂三：即用型，常温保存。

蔗糖试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

葡萄糖试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

葡萄糖试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

葡萄糖混合试剂：使用前将试剂一和试剂二等体积混合，按需求配置。

果糖标准品：10mg 果糖，临用前加入 1mL 去离子水溶解，得到 10mg/mL 标准品；用不完的试剂可 4℃保存一周或分装-20℃保存，避免反复冻融。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 10mg/mL 果糖标准溶液稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156、0.078 mg/mL 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
标准品 1	100μL 10mg/mL	100	5
标准品 2	100μL of 标准品 1 (5mg/mL)	100	2.5
标准品 3	100μL of 标准品 2 (2.5mg/mL)	100	1.25
标准品 4	100μL of 标准品 3 (1.25mg/mL)	100	0.625
标准品 5	100μL of 标准品 4 (0.625mg/mL)	100	0.313

标准品 6	100μL of 标准品 5 (0.313mg/mL)	100	0.156
标准品 7	100μL of 标准品 6 (0.156mg/mL)	100	0.078

蔗糖标准品：含 10mg 蔗糖；使用前加入 1mL 去离子水充分溶解，制备 10mg/mL 蔗糖标准溶液待用；用不完的试剂可 4℃保存一周或分装-20℃保存，避免反复冻融。

蔗糖标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 10mg/mL 蔗糖标准溶液稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156、0.078 mg/mL 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
标准品 1	100μL 10mg/mL	100	5
标准品 2	100μL of 标准品 1 (5mg/mL)	100	2.5
标准品 3	100μL of 标准品 2 (2.5mg/mL)	100	1.25
标准品 4	100μL of 标准品 3 (1.25mg/mL)	100	0.625
标准品 5	100μL of 标准品 4 (0.625mg/mL)	100	0.313
标准品 6	100μL of 标准品 5 (0.313mg/mL)	100	0.156
标准品 7	100μL of 标准品 6 (0.156mg/mL)	100	0.078

葡萄糖标准品：含 4mM 葡萄糖溶液 1mL，开盖以后的试剂可 4℃保存一周或分装-20℃保存，避免反复冻融。

葡萄糖标准曲线设置：按下表所示用去离子水将 4mmol/L 标准品稀释为 4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 mmol/L 的标准溶液。

	标准品体积	去离子水体积 (μL)	浓度 (mmol/L)
标准品 1	200 μL 4 mmol/L	0	4
标准品 2	100 μL of Std.1 (4 mmol/L)	100	2
标准品 3	100 μL of Std.2 (2 mmol/L)	100	1
标准品 4	100 μL of Std.3 (1 mmol/L)	100	0.5
标准品 5	100 μL of Std.4 (0.5 mmol/L)	100	0.25
标准品 6	100 μL of Std.5 (0.25 mmol/L)	100	0.125
标准品 7	100 μL of Std.6 (0.125 mmol/L)	100	0.0625



注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

五、样本制备

果糖和蔗糖：

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 0.5mL 提取液，常温匀浆，快速转移到有盖离心管中，置于 80℃水浴锅中保温 10min（盖紧，以防止水分散失），期间振荡 3-5 次，冷却后，4000g，25℃离心 10min，上清，加入 2mg 试剂三，80℃脱色 30min（盖紧，以防止水分散失），再加入 0.5mL 提取液，冷却后，4000g，25℃离心 10min，取上清液测定。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 0.5mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），快速转移到有盖离

心管中，置于 80℃水浴锅中保温 10min（盖紧，以防止水分散失），期间振荡 3-5 次，冷却后，4000g，25℃离心 10min，取上清，加入 2mg 试剂三，80℃脱色 30min（盖紧，以防止水分散失），再加入 0.5 mL 提取液，冷却后，4000g，25℃离心 10min，取上清液测定。

液体样本：取约 0.1mL 液体样本，加入 0.5mL 提取液混匀，快速转移到有盖离心管中；置于 80℃水浴锅中保温 10min（盖紧，以防止水分散失），期间振荡 3-5 次，冷却后，4000g，25℃离心 10min，取上清；加入 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，冷却后，4000g，25℃离心 10min，取上清液测定。

葡萄糖：

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 去离子水匀浆，95℃水浴 10 分钟（盖紧，防止水分散失），冷却后，8,000g，25℃离心 10min，取上清液待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 去离子水，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），95℃水浴 10 分钟（盖紧，防止水分散失），冷却后，8,000g，25℃离心 10min，取上清液待测。

液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数。

 **注意：**推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。

六、实验步骤

果糖：

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 480nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
样本	0	0	30
果糖标准品	0	30	0
去离子水	30	0	0
果糖/蔗糖试剂一	210	210	210
果糖/蔗糖试剂二	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 96 孔板或微量玻璃比色皿中，在 480nm 处测定各孔的吸光度，计算 $\Delta A_{测} = A_{测定} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标准} - A_{空白}$ 。空白和标准曲线只要测一次。

 **注意：**正式实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{测}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测}$ 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以最终稀释倍数，或减少提取用样本量。

蔗糖：

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 480nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
样本	0	0	25
蔗糖标准品	0	25	0
去离子水	25	0	0
蔗糖试剂四	15	15	15

混匀，沸水浴煮沸 5min 左右（盖紧，防止水分散失）

果糖/蔗糖试剂一	175	175	175
果糖/蔗糖试剂二	50	50	50

混匀，沸水浴 30min，冷却后，取 200μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，480nm 下测定各管吸光值。空白和标准曲线只要测定一次。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$



注意：正式实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.2，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

葡萄糖：

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 505nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂

	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)
样本	0	0	20	20
葡萄糖标准液	0	20	0	0
去离子水	20	0	0	180
葡萄糖混合试剂	180	180	180	0

混匀，置于 37℃ 保温 15min 后于 505nm 处读取吸光值；计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。



注意：1. 空白孔和标准曲线只需测一次；对照孔是为了扣除样本本身的颜色，如果样本没有明显颜色可不设置对照管，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.5，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

七、结果计算

样本果糖含量计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入方程计算出 y 值。

2. 样本果糖含量计算

- 1) 按样本质量计算：

$$\text{果糖含量 (mg/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$$

- 2) 按细胞数目计算

$$\text{果糖含量 (mg/10}^4\text{cells)} = y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

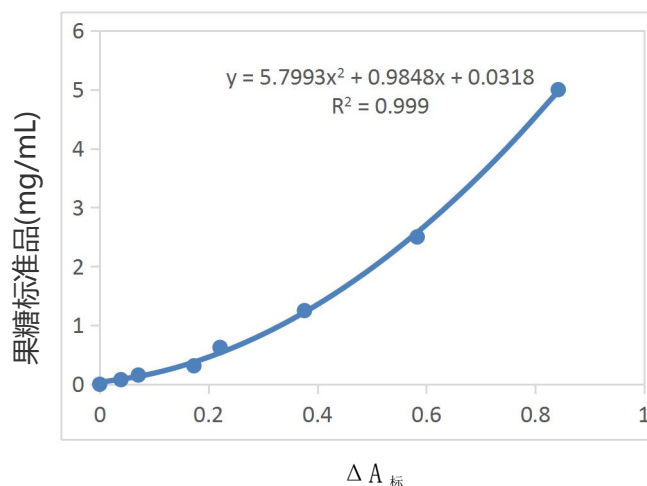
- 3) 按液体样本体积计算：

$$\text{果糖含量 (mg/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div V_{\text{液}} \times n$$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.03mL； $V_{\text{样总}}$ ：样本总体积，1mL；W：样本质量，g； $V_{\text{液}}$ ：液体样本体积，mL；n：稀释倍数；500：细胞数量，500 万。

结果展示

典型标准曲线



样本蔗糖含量计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， ΔA 标准为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{测}$ 带入方程计算出 y 值。

2. 样本蔗糖含量计算

1) 按样本质量计算：

$$\text{蔗糖含量(mg/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$$

2) 按细胞数目计算

$$\text{蔗糖含量 (mg/10}^4\text{cells)} = y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

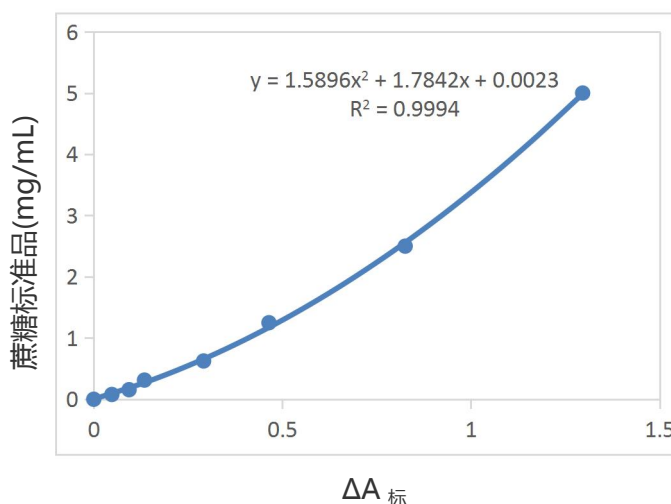
3) 按液体样本体积计算：

$$\text{蔗糖含量 (mg/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div V_{\text{液}} \times n$$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.025mL； $V_{\text{样总}}$ ：样本总体积，1mL；W：样本质量，g； $V_{\text{液}}$ ：液体样本体积，mL；n：稀释倍数；500：细胞数量，500 万。

结果展示

典型标准曲线



样本葡萄糖含量计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准液浓度为 y 轴， ΔA 标为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{测}$ 带入方程计算出 y 值（mmol/L 即 $\mu\text{mol/mL}$ ）。

葡萄糖含量的计算：

1) 按样本鲜重计算

$$\text{葡萄糖含量 (}\mu\text{mol/g 鲜重)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$$

2) 按细胞数目计算

$$\text{葡萄糖含量 (}\mu\text{mol}/10^4\text{cells)} = y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

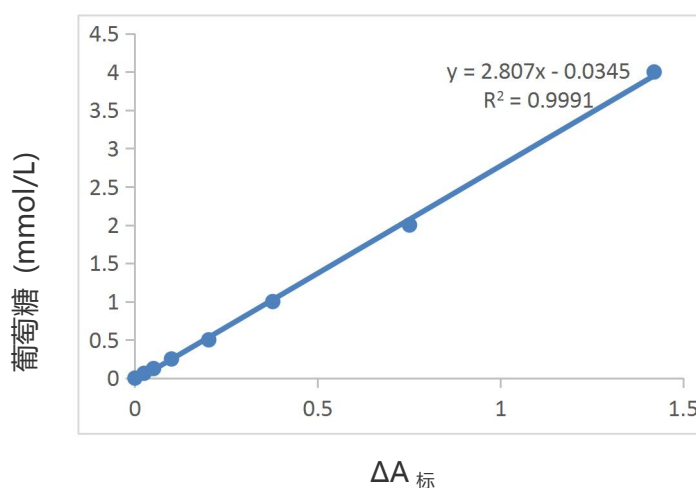
3) 按液体样本体积计算

$$\text{葡萄糖含量 (}\mu\text{mol/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$$

V 样：加入样本体积，0.02mL；W：样本质量，g；V 样总：提取时加入去离子水体积，1mL；n：样本稀释倍数；500：细胞数量，500 万。

结果展示

典型标准曲线



附录：常见问题与解决方案 (FAQ)

问题	解决措施
计算时如果选择合适的计算公式？	动物组织及细胞微生物等，可以用质量或者细胞数量计算，也可以建议测蛋白浓度
	植物可建议用质量计算，也可以建议测蛋白
	血液或是其他液态样品，可建议用体积计算
	如客户要购买蛋白含量测定试剂盒，除了说明书强调用考马斯亮蓝法的，通常建议 BCA 法。动植物组织因为蛋白含量高，在 10mg/ml 左右，如果用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度的话通常需要用 PBS 缓冲液等稀释液进行稀释。
测定时如何进行调零？	除说明书中提示用对照管或某种试剂调零外，都用纯水调零。
试剂盒中样本提取时需要 0.1g 组织，我的样品	通常可以按比例缩小，如说明书中是约 0.1g 组织加 1ml 提取液，可以等比例缩小，如 0.05g 组织加 0.5ml 提取液提取。后续操作不变。

	对于数量少的样品，一方面可以减少提取液体积，另一方面还可以延长反应时间。
--	--------------------------------------

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1165BKM 果糖检测试剂盒（微量法）

PMK1166BKM 蔗糖检测试剂盒（微量法）

PMK1164BKM 葡萄糖检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

