

葡萄糖(Glucose)(GOPOD 氧化酶法)含量试剂盒说明书

(分光法 48 样)

一、产品简介:

葡萄糖 ($C_6H_{12}O_6$, FW: 180.16), 是产生能量分子ATP的主要来源。本试剂盒提供一种定量、快速、简单、灵敏的检测方法, 葡萄糖被特异性氧化以产生与显色剂反应的(粉)红色产物, 该产物在520nm有最大吸收峰, 进而得到葡萄糖含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 mg×1 瓶	-20℃保存	临用前加 4.2mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 34mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	粉体 mg×1 支	室温干燥保存	用前准确称取 2mg 粉体即葡萄糖至一新 EP 管中, 再加 2mL 蒸馏水充分溶解即得 1mg/mL 标准品, 再用蒸馏水稀释成 0.5mg/mL, 待用。(该标准品粉体开封后也需干燥保存和使用)

三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、天平、移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

四、葡萄糖含量检测:

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。
- ② **细胞样本:** 先收集细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细胞加入 1mL 蒸馏水或 PBS 或生理盐水, 超声波破碎细胞(冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细胞数量(10^4): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

- ③ **液体样品:** 澄清的液体样本直接检测, 若浑浊则需离心后取上清液测定。

2、上机检测:

- ① 可见分光光度计预热 30min, 设置温度在 25℃, 设定波长到 520nm, 蒸馏水调零。
- ② 做实验前选取 2 个样本, 找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。如: 果实类样本, 需稀释 5-10 倍。
- ③ 在 EP 管或 1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	40		
蒸馏水		40	
标准品			40
试剂一	80	80	80
试剂二	680	680	680
混匀, 37℃避光反应 30min, 520nm 下读取吸光值 A, ΔA 葡萄糖=A 测定-A 空白。			

-
-
- 【注】：1.若待检测样本有强背景色（如粉色，红色等），需做一个样本自身对照：即40 μ L 样本+80 μ L 蒸馏水+680 μ L 试剂二，37 $^{\circ}$ C避光反应30min，520nm下读取吸光值A， ΔA 葡萄糖=A 测定-A 对照。
- 2.测定管的A值若超过1.5，可把样本用蒸馏水进行稀释，稀释倍数D代入计算公式。
- 3.若 ΔA 小于0.01，可增加样本加样体积V1（如由40 μ L增至80或120 μ L或更多，则试剂二相应减少），空白管和标准管保持不变；或增加样本取样质量W或细胞取样数量。则改变后的V1和W和细胞数量需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量(mg/g 鲜重)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.5 \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D \end{aligned}$$

2、按照细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量(mg/10}^4 \text{ cell)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.5 \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div 500 \times D \end{aligned}$$

3、按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量(mg/mL)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D \\ &= 0.5 \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \end{aligned}$$

C 标准---葡萄糖标准品的浓度，0.5mg/mL； D---稀释倍数，未稀释即为1；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

W---样本鲜重，g；

500---细胞数量，万。
