

葡萄糖(Glucose)(GOPOD 氧化酶法)含量试剂盒说明书

(货号: G0504F96 分光法 96 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	液体 8.5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	二 A: 液体 50mL×1 瓶 二 B: 液体 25mL×1 瓶	4°C保存	临用前按照试剂二 A:二 B=2:1 的比例混合制备成 试剂二 mix (建议该混合液用多少配多少, 且避光保存, 且一周内用完)。
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, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

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°C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°C, 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 (μL)	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°C避光反应 30min, 若是在 EP 管中操作需全部转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 520nm 下读取吸光值 A, ΔA 葡萄糖=A 测定-A 空白。			

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。