

Glucose Content Kit

葡萄糖含量（己糖激酶法）检测试剂盒说明书

货号：G0542F | 方法：可见分光法 | 规格：48 样

一、产品简介：

葡萄糖 (C₆H₁₂O₆)，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	粉剂×1 支	-20°C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	35mL 液体×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉剂×1 支	-20°C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

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、水浴锅、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。

【注】：A.做实验前可以选取几个样本，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D，果实样本含糖量较高，可

稀释 20-40 倍；叶片样本可稀释 2-5 倍。

B.若离心后的上清液（高脂或高蛋白样本如动物组织等）比较浑浊，可取出上清液转移至新 EP 管中再次或多次离心后取上清液测定；也可取上清液于 95°C 孵育 5-10min 后离心取上清液测定。

② 细胞/菌类样本：先收集细胞或细菌到离心管内，离心弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水；冰浴超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3S，间隔 10S，重复 30 次）；12000rpm，常温离心 10min，取上清液待测。

【注】：也可按照细菌或细胞数量（10⁴ 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样品：近似中性的澄清液体样本可直接检测；若为酸性样本则需先用 NaOH(2M) 调 PH 值约 7.4，然后室温静置 30min，取澄清液体直接检测。

【注】可选取几个样本，进行不同倍数的稀释，选取适合本次样本的稀释倍数 D。

2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30min，设置温度在 25°C，设定波长到 340nm，蒸馏水调零。

② 试剂解冻至室温（25°C），或可放在 25°C 条件下水浴 5-15min。

③ 试剂一和二可按照 25:600 比例配成混合液（一枪加 625μL 该混合液）（该混合液用多少配多少，现配现用）。

④ 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	625	625
混匀，室温（25 $^{\circ}\text{C}$ ）下，5min后于340nm处读取各管A1值		
试剂三	25	25
混匀，室温（25 $^{\circ}\text{C}$ ）下，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分钟内变化值在0.1内）， $\Delta A = (A2 - A1)_{\text{测定}} - (A2 - A1)_{\text{空白}}$ 。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

$$\text{葡萄糖含量}(\text{mg/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A \div W \times D$$

2、按照细胞数量计算：

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 800.7 \times \Delta A \div 500 \times D$$

3、按照体积计算：

$$\text{葡萄糖含量}(\text{mg/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div V1 \times D = 0.8 \times \Delta A \times D$$

ϵ --- NADPH 的摩尔消光系数， $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；

V---加入提取液体积，1mL；

V2---反应总体积， $7 \times 10^4 \text{ L}$ ；

W---样本鲜重，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

d---光径，1cm；

V1---加入样本体积，0.025mL；

Mr---葡萄糖分子量，180.16；

500-细胞数量，万；