

牛乳中葡萄糖(Glucose)含量(GOPOD 氧化酶法)检测说明书

(货号: BP10344F 分光法 48 样 有效期: 6 个月)

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 A1	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂 A2	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂 A3	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 1 瓶	-20℃避光保存	1. 临用前加 4.2mL 的蒸馏水溶解备用; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 34mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准管	粉体 1 支	室温干燥保存	1. 用前准确称取 2mg 粉体即葡萄糖至一新 EP 管中; 2. 加入 2mL 蒸馏水充分溶解即得 1mg/mL 标准品; 3. 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); 4. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、所需仪器和用品:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

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!

1.1、样本制备:

牛乳样品: 此类样本浑浊, 蛋白含量较高, 需按照下述步骤进行除蛋白处理。

1.2、除样本中蛋白:

试剂名称	加入量 (μL)
试剂 A1	50
蒸馏水	100
样本	250
试剂 A2	50
试剂 A3	50
混匀, 静置 5min 后于 12000rpm 离心 5min, 上清液待检。	

【注】1. 此时样本相当于稀释 2 倍, 即稀释倍数 D1 为 2。

2、上机检测:

- ① 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 D2。
- 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℃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.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 D2 代入计算公式。
2.若 ΔA 小于 0.01，可增加样本加样体积 V1（如由 40μL 增至 80 或 120μL 或更多，则试剂二相应减少），空白管和标准管保持不变。则改变后的 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\text{葡萄糖含量(mg/mL)} = (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D1 \times D2 \\ = 0.5 \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D1 \times D2$$

2、按照蛋白浓度计算：

$$\text{葡萄糖含量(mg/mg prot)} = (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D1 \times D2 \div Cpr \\ = 0.5 \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D1 \times D2 \div Cpr$$

C 标准---葡萄糖标准品的浓度，0.5mg/mL； V1---加入样本体积，0.04mL；

D1---稀释倍数，2。

D2---稀释倍数，未稀释即为1；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL）； 建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。