

牛乳中葡萄糖(Glucose)含量(GOPOD 氧化酶法)检测说明书

(货号: BP10344W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂 A1	液体 6mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂 A2	液体 6mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂 A3	液体 6mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	粉体 1 瓶	-20℃避光保存	1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入 2.1mL 的蒸馏水溶解备用; 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 18mL×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, 待用。(该标准品粉体开封后也需干燥保存和使用); 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、实验器材:

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)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1.1、样本提取:

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:

试剂组分	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、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25℃, 设定波长到 520nm。

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 96 孔板中依次加入：

试剂组分 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
试剂一	20	20	20
试剂二	170	170	170
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 10μL 增至 20 或 50μL 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：

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

2、按照蛋白浓度计算：

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

C 标准---葡萄糖标准品的浓度，1mg/mL；

V1---加入样本体积，0.01mL；

D1---稀释倍数，2。

D2---稀释倍数，未稀释即为1。