

# 葡萄糖含量测定试剂盒

## 葡萄糖含量测定试剂盒

作为分析工具，酶法已在食品、生物化学和制药工业中得到了广泛的应用。酶法具有特异性强，可重复性好，灵敏度高，检测速度快等优点，是理想的分析方法。本试剂盒主要用酶法定量测定食品和其他材料中葡萄糖的含量。

葡萄糖在葡萄糖氧化酶的作用下，氧化为葡萄糖酸和过氧化氢。在过氧化物酶的存在下，过氧化氢与邻联茴香胺反应，生成有色产物。氧化的邻联茴香胺与酸反应，形成更稳定的有色产品。在 540nm 下测定其吸光度值，吸光度值的变化与原来的葡萄糖浓度成正比。

本试剂盒适用于葡萄糖含量的比色测定，可完成 100 次反应。

## 试剂准备

1. 酶溶液：用 98mL 酶缓冲液溶解 1 管酶，颠倒混匀，不要涡旋。分装后避光保存于-20 ℃。
2. 邻联茴香胺溶液：在邻联茴香胺试管中，加入 5mL 蒸馏水溶解酶，颠倒混匀，不要涡旋，分装后避光保存于-20 ℃。
3. 分析缓冲液：将酶溶液与邻联茴香胺溶液混合，比例为 49 比 1，按需要的量进行混合，混合后的溶液，可在 2-8 ℃ 下避光保存 2 周。如果出现浑浊或有颜色形成，应丢弃。
4. 终止反应液：将市售浓硫酸与蒸馏水混合，比例为 1:2。切记，在 40mL 蒸馏水中，缓慢加入 20mL 浓硫酸。不能将蒸馏水加入浓硫酸中。其中，浓硫酸需用户自备。

## 使用说明

### 一 样本制备

1. 液体样本制备：用蒸馏水将样品稀释至约 20~80 $\mu$ g 葡萄糖/mL。如果需要，可过滤或去蛋白，使溶液澄清。有颜色的溶液需要脱色；碳酸或发酵产品需要脱气。
2. 固体样本制备：称取样品约 0.1mg。用蒸馏水提取样品。该溶液可加热 (<75 ℃) 以辅助提取。用蒸馏水将样品稀释至约 20~80 $\mu$ g 葡萄糖/mL。如果需要，可过滤或去蛋白，使溶液澄清。

### 二 葡萄糖检测

方法 1：用不同浓度葡萄糖制备标准曲线

1. 按下表将不同的试剂加入标记的试管中：

试管	蒸馏水(mL)	样本(mL)	葡萄糖标准品 (mL)
试剂对照	1.00	---	---
标准品# 1	0.98	---	0.02
标准品# 2	0.96	---	0.04
标准品# 3	0.94	---	0.06
标准品# 4	0.92	---	0.08
检测管	---	1.00	---

2. 在第一个试管中加入 2mL 分析缓冲液启动反应，然后混合，记为零时；随后每间隔 30 或 60 秒，在一个试管中加入 2mL 分析缓冲液，以此类推。
3. 让每个试管在 37 ℃ 下准确孵育 30min。每间隔 30 或 60 秒，在各试管中依次加入 2mL 终止反应液终止反应。
4. 试剂对照管调零，在 540nm 处比色。

## 方法 2: 单一标准品葡萄糖浓度的测定

1. 按下表将不同的试剂加入标记的试管中:

试管	蒸馏水(mL)	样本(mL)	葡萄糖标准品 (mL)
试剂对照	1.00	---	---
标准品	0.95	---	0.05
检测管	---	1.00	---

2. 在第一个试管中加入 2mL 分析缓冲液启动反应, 然后混合, 记为零时; 随后每间隔 30 或 60 秒, 在一个试管中加入 2mL 分析缓冲液, 以此类推。

3. 让每个试管在 37 °C 下准确孵育 30min。每间隔 30 或 60 秒, 在各试管中依次加入 2mL 终止反应液终止反应。

4. 试剂对照管调零, 在 540nm 处比色。

### 三 计算

#### 方法 1

用 540nm 处的吸光度值(OD 值)(y 轴)与葡萄糖的含量(mg)(x 轴), 制备标准曲线。如果曲线非线性, 表明结果不准确, 需重新检测。

用标准曲线测定样本中的葡萄糖含量。

如果是稀释样本, 需乘以稀释倍数。

#### 方法 2

葡萄糖(mg)=( $\Delta A_{540}$  待测样本)  $\times$  (0.05) /  $\Delta A_{540}$  标准曲线

如果是稀释样本, 需乘以稀释倍数。

### 注意事项

1. 将反应试管在 37 °C 下准确孵育 30min。

2. 硫酸需用户自备。终止反应液为强酸溶液, 必须带手套进行操作。如果不慎溅至皮肤, 用大量清水洗涤。如果严重, 请及时就医。

3. 建议将葡萄糖标准品分装后保存于-20°C。

### 温馨提示

为了您的自身安全, 使用试剂前, 请做好防护, 如穿实验服, 带手套等。

### 储存温度

2~8°C 保存

### 包装清单

货号	品名	包装
HT028A	酶	1 管
HT028B	酶缓冲液	100mL $\times$ 2
HT028C	邻联茴香胺	1 管
HT028D	葡萄糖标准品	10mL
	说明书	1 份