

牛乳中半乳糖（D-Galactose）含量试剂盒（紫外法） （微板法）

产品货号：BA2735

产品规格：48样

产品简介：

半乳糖在含有半乳糖脱氢酶的复合酶作用下被分解，同时使NAD⁺还原成NADH，通过检测340nm下NADH的增加量，计算得到半乳糖的含量。

测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存温度	备注
试剂A1	液体3mL×1瓶	2-8℃	
试剂A2	液体3mL×1瓶	2-8℃	
试剂A3	液体3mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下或离心，使粉剂落入底部，再加0.55mL蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体8mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	液体μL×1支	2-8℃	临用前甩几下或离心，使微量液体落入底部，再加0.55mL蒸馏水混匀备用。
标准品	半乳糖标品 (0.5mg/mL)	2-8℃	仅用来鉴定试剂是否正常。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

半乳糖含量检测：

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：

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。

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。

3. 上机检测：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- ① 酶标仪预热30min，调节波长到340nm。
- ② 所有试剂解冻至室温(25℃)，或于25℃水浴锅中孵育15min；为了减少操作误差，建议使用排枪。
- ③ 做实验前可以选取几个样本做预测定，若待检测指标含量较高可通过用蒸馏水稀释找出适合本次检测样本的稀释倍数D2。
- ④ 依次在96孔板中加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
蒸馏水	30	40
试剂一	10	10
试剂二	140	140
混匀，25℃条件下孵育5min于340nm处读取各管的A1值		
试剂三	10	10
混匀，25℃条件下反应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分钟内的吸光值保持不变)， $\Delta A_{\text{半乳糖}} = (A2-A1)_{\text{测定管}} - (A2-A1)_{\text{空白管}}$ 。		

- 【注】**1. 若A2值大于1则需用蒸馏水对样本进行稀释，或者降低样本加样体积V1(如减至5μL，则蒸馏水相应增加)，则稀释倍数D2或V1需代入公式重新计算。
2. 若A2-A1的差值小于0.1则可增加样本取样质量W或增加样本加样体积V1(如增加至20μL，则蒸馏水相应减少)，则改变后的W或V1需代入公式重新计算。

结果计算：

1. 按照体积计算：

$$\text{半乳糖含量(mg/mL)} = [\Delta A_{\text{半乳糖}} \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times 180.16 \div V1 \times D1 \times D2$$

$$= 1.159 \times \Delta A_{\text{半乳糖}} \times D1 \times D2$$

ϵ ---NADH的摩尔吸光系数为 $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；d---光径距离，0.5cm；V1---样本体积，10μL=0.01mL；V2---反应总体积，200μL= $2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；半乳糖分子量---180.16；D1---稀释倍数，2；D2---稀释倍数，未稀释即为1。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com