

牛乳中乳糖 (Lactose) 含量检测试剂盒说明书

(货号:ADS-W-TDX066 微板法 48 样)

一、产品简介:

乳糖在 β -半乳糖苷酶作用下分解成半乳糖和葡萄糖,葡萄糖被特异性酶氧化产生与显色剂反应的(粉)红色产物,该产物在 510nm 处有最大吸收峰,通过校正游离的葡萄糖背景值进而得到乳糖含量。

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 2mL×1 支	4℃保存	
试剂 A3	液体 2mL×1 支	4℃保存	
试剂一	液体 1 支	4℃保存	临用前甩几下或离心,使微量液体落入底部,再加 0.6mL 蒸馏水混匀。
试剂二	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 14mL×1 瓶	4℃保存	临用前加 7mL 试剂三混匀备用
试剂五	粉体 1 支	-20℃保存	临用前甩几下或离心,使粉体落入底部,再加 1.1mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉体 1 支	4℃保存	临用前甩几下或离心,使粉体落入底部,再加 2mL 蒸馏水溶解即 5mg/mL 的葡萄糖,再稀释 10 倍成 0.5mg/mL 备用测定。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

四、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!

1.1、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 (μ L)
试剂 A1	50
蒸馏水	350
样本	50
试剂 A2	25
试剂 A3	25
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 10 倍,即稀释倍数 D1 为 10;若需减少该步样本的稀释倍数则可样本增至 100,则蒸馏水减少至 300,则稀释倍数 D1 为 5。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min,设置温度在 25℃,设定波长到 510nm。
- ② 所有试剂解冻至室温 (25℃)。
- 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 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	10	10		
标准品			10	
蒸馏水	20	30	30	40
试剂一	10			
试剂二	30	30	30	30
混匀，25℃条件下孵育20min				
试剂四	170	170	170	170
试剂五	10	10	10	10
混匀，37℃条件下避光孵育 30min，510nm 下读取吸光值 A， ΔA=A测定-A对照（每个样本做一个自身对照）。				

【注】1.若对照管的 A 值超过 0.6，样本需用蒸馏水进行稀释，稀释倍数 D2 代入计算公式。

2.若ΔA 值低于 0.01，可增加样本加样体积 V1（如增至 20μL，则蒸馏水相应减少），
或减少除蛋白步骤中的稀释倍数 D1，改变后的 V1 和 D1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\text{乳糖含量}(\text{mg/mL}) &= (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times 342.3 \div 180.16 \div \text{V1} \times \text{D1} \times \text{D2} \\ &= 0.95 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D1} \times \text{D2}\end{aligned}$$

乳糖分子量---342.3；

葡萄糖分子量---180.16；

C 标准---葡萄糖标准品的浓度，0.5mg/mL； V1---加入样本体积，0.01mL；

D1---稀释倍数，10。

D2---稀释倍数，未稀释即为 1。