

牛乳中乳糖（Lactose）含量检测试剂盒说明书

（货号: G05100F 分光法 24 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 2mL×1 瓶	4°C保存	
试剂 A2	液体 2mL×1 支	4°C保存	
试剂 A3	液体 2mL×1 支	4°C保存	
试剂一	液体 μ L×1 支	4°C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 5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	液体 18mL×1 瓶	4°C保存	临用前加 9mL 试剂三混匀备用
试剂五	粉体 mg×1 支	-20°C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 mg×1 支	4°C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，再用蒸馏水稀释成 0.3mg/mL 备用测定。

三、所需仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、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将样本增至 100，则蒸馏水减少至 300，则稀释倍数 D1 为 5。

2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30min，设置温度在 25°C，设定波长到 510nm，蒸馏水调零。

- 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 EP 管中依次加入：

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	40	40		
标准品			40	
蒸馏水	80	100	100	140
试剂一	20			
试剂二	100	100	100	100
混匀，25℃条件下孵育20min				
试剂四	480	480	480	480
试剂五	20	20	20	20
混匀，37℃条件下避光孵育 30min，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm），于 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 80μL，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：

$$\begin{aligned} \text{乳糖含量(mg/mL)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times 342.3 \div 180.16 \div V1 \times D1 \times D2 \\ &= 0.57 \times \Delta A \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D1 \times D2 \end{aligned}$$

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，0.3mg/mL；

V1----加入样本体积，0.04mL；

D1---稀释倍数，10。

D2---稀释倍数，未稀释即为 1。