

Milk D-Galactose Content Kit

牛乳中半乳糖含量试剂盒说明书

货号:BN72406 | 方法: 紫外分光法 | 规格: 24 样

一、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。

二、测试盒组成和配制:

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 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂 A3	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下或离心, 使粉体落入底部, 再加 0.55mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 μL×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 0.55mL 蒸馏水混匀备用。
标准品	半乳糖标品 (0.25mg/mL)	4℃保存	仅用来鉴定试剂是否正常。

三、所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿 (光径 1cm)、离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

四、半乳糖 (D-Galactose) 含量测定:

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 (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、上机检测:

- ① 可见分光光度计预热 30 min 以上, 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 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中加入：

试剂名称（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	40	
蒸馏水	100	140
试剂一	20	20
试剂二	560	560
混匀，25℃条件下孵育5min于340nm处读取各管的A1值		
试剂三	20	20
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）， $\Delta A_{\text{半乳糖}} = (A2 - A1)_{\text{测定管}} - (A2 - A1)_{\text{空白管}}$		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{半乳糖含量}(\text{mg/mL}) &= [\Delta A_{\text{半乳糖}} \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times 180.16 \div V1 \times D1 \times D2 \\ &= 0.54 \times \Delta A_{\text{半乳糖}} \times D1 \times D2 \end{aligned}$$

ϵ ---NADH的摩尔吸光系数为 $6.22 \times 10^4 \text{ L/mol/cm}$ ；

d---光径距离，1cm；

V1---样本体积， $40 \mu\text{L} = 0.04 \text{ mL}$ ；

V2---反应总体积， $740 \mu\text{L} = 0.74 \text{ mL}$ ；

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。