

Lactulose Content Kit

乳果糖含量检测试剂盒说明书

货号: BN72435 | 方法: 微板法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

乳果糖是一种包含 D-半乳糖和 D-果糖的双糖, 仅在高温下由普通牛奶中乳糖产生。在生牛奶中, 乳果糖的含量非常低。然而, 随着热处理的增加, 这种糖最终可以达到约 2g/L (例如, UHT 牛奶)。该试剂盒不适用“游离果糖”与乳果糖的比率极高的样本 (如人工加糖的样品 (如炼乳))。

本试剂盒采用特异性酶复合物分解乳果糖生成果糖和半乳糖, 果糖接着在PGI和己糖激酶等酶复合物作用下, 使NADPH的量不断增加, 通过检测340nm下该物质的增加量, 进而计算得到乳果糖含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 15mL×1 支	4°C保存	
试剂二	液体 1mL×1 支	4°C保存	
试剂三	液体 1mL×1 支	4°C保存	
试剂四	液体 2mL×1 支	4°C保存	
试剂五	液体μL×1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心, 使微量液体落入底部, 加 0.65mL 蒸馏水混匀备用 (可-20°C分装冻存, 禁止反复冻融)。
试剂六	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂七	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, 每支再加 1.2mL 蒸馏水混匀溶解, 静置 10min 后取上清液备用 (可-20°C分装冻存, 禁止反复冻融)。
试剂八	粉体 mg×1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心, 使试剂落入底部, 再加 0.6mL 蒸馏水混匀溶解 (可-20°C分装冻存)。
试剂九	粉体 mg×1 支	-20°C保存	
试剂十	粉体 mg×1 支	-20°C保存	
试剂十一	液体μL×1 支	-20°C保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4°C保存	该标准品为乳果糖和果糖的混标, 可作为质控品来检验试剂和反应是否正常。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、可调式移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

四、乳果糖含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1.1、样本制备:

- ① **液体样品:** 近似中性的澄清液体样本直接检测, 若浑浊则离心后取上清液测定。
- ② **奶粉等固体样本:** 取 0.1g 样本于 EP 管中, 加 1mL 的蒸馏水混匀溶解。

1.2、除样本中蛋白:

	加入量 (μL)
试剂一	100

蒸馏水	350
样本	250
试剂二	25
试剂三	25
混匀，静置 5min 后于 12000rpm 离心 5min，上清液待检。	

1.3、除样本中葡萄糖(试剂六和七和八可按照比例 80:20:10 混匀，用多少混多少，现配现用):

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
1.2 步得到的上清液	50	50
试剂四	20	20
蒸馏水		20
试剂五	20	
混匀于 40℃ 孵育 1 小时，结束后依次加入以下试剂且每加一次试剂后就立即混匀。		
试剂六	80	80
试剂七	20	20
试剂八	10	10
混匀，于 40℃ 孵育 30min，再于 12000rpm 离心 5min，上清为待检。		

1.4、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min，设定波长到 340nm。
- ② 试剂预先解冻至 30℃或 30℃水浴锅孵育 10min，在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管 (μL)	对照管 (μL)
1.3步得到的上清液	50	50
试剂九	10	10
试剂一	120	120
混匀，30℃孵育5min后于340nm处读取各管的A1值		
试剂十	10	10
混匀，30℃反应20min于340nm处读取各管A2值（若A值继续增加，需延长反应时间，直至2分钟内吸光值保持不变）		
试剂十一	10	10
混匀，30℃反应20min于340nm处读取各管A3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）， $\Delta A = (A3 - A2)$ 测定- $(A3 - A2)$ 对照。		

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、按照质量计算：

$$\text{乳果糖含量(mg/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \times 12 \times D = 5.22 \times \Delta A \div W \times D$$

2、按照体积计算：

$$\text{乳果糖含量(mg/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div V1 \times 12 \times D = 5.22 \times \Delta A \times D$$

ϵ ---NADPH 的摩尔消光系数， 6.3×10^3 L/mol/cm； V---加蒸馏水体积，1mL；
d---0.5cm； V1---1.4 步中样本体积，0.05mL； V2---1.4 步反应总体积， 2×10^{-4} L；

Mr---乳果糖分子量，342.3； D---稀释倍数，未稀释即为 1； W---样本鲜重，g；
12---1.2 步骤中样本稀释 3 倍，1.3 步骤中上清液稀释 4 倍，两次共稀释 12 倍。