

版本：精简版

修改日期：2023.12.28

葡萄糖检测试剂盒(邻甲苯胺微板法)

产品简介：

葡萄糖(Glucose, Dextrose, Glu)又称玉米葡糖，简称葡糖，化学式 $C_6H_{12}O_6$ ，分子量为 180.16，是自然界分布最广、最重要的一种单糖，属于多羟基醛，用酶学方法测定葡萄糖是生化检测中的常用方法，最常用的有葡萄糖氧化酶法、己糖激酶法，上述酶学法特点是：1、灵敏度、准确度、精密度均高；2、使用温和的反应条件；3、操作简便；4、适用于自动分析仪，测定葡萄糖亦可通过邻甲苯胺法、苯胺法、联苯胺法等实现。

Leagene 葡萄糖检测试剂盒(邻甲苯胺微板法)检测原理是葡萄糖在加热的有机酸中脱水后能与邻甲苯胺缩合成雪夫氏碱，后者呈青色或蓝绿色，其最高吸收峰为 630nm，颜色深浅与葡萄糖含量成正比，经酶标仪与标准品进行对比求得葡萄糖含量，专门用于人或动物的血清、血浆、脑脊液、细胞、组织等样本中的葡萄糖含量定量测定；该试剂盒的特点：1、特异性高，其测定结果为真糖值；2、不受还原物质干扰；3、无需去除血浆或血清中的蛋白质。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

| 名称 | 编号 | TC0715 100T | Storage |
|------------------------|----|----------------|---------|
| 试剂(A): Glu 标准(5mmol/L) | | 1ml | 4°C |
| 试剂(B): O-Toluidine 显色液 | | 50ml | 4°C 避光 |
| 使用说明书 | | 1 份 | |

自备材料：

- 1、蒸馏水、PBS、生理盐水、三氯乙酸溶液(5%)
- 2、EP 管、96 孔板、水浴锅、96 孔板、酶标仪

操作步骤(仅供参考)：

1、样品处理：

①血清、血浆、脑脊液及清亮的胸腹水样品：从待测样本中分离出的血清或血浆不应有溶血，直接检测。

②细胞样品：

a.取适量的细胞(一般推荐 $>10^6$ 以上)，1000g 离心，弃上清，留取沉淀。

b.用 PBS 或生理盐水清洗 1~2 次，1000g 离心，弃上清，留取沉淀。

c.加入 200~300 μ l 的 PBS 或生理盐水匀浆，冰浴条件下超声破碎细胞，功率 300W，每次 3~5s，间隔 30s，重复 3~5 次；亦可手动匀浆，制备好的匀浆液不可离心，待用；亦

可用 1~2% Triton X-100 冰浴，制备好的裂解液不可离心，待用。

③组织样品：准确称取适量组织样品，按质量(g)：生理盐水或 PBS(ml)=1：9 的比例，加入生理盐水或 PBS，冰浴条件下手动或机械匀浆，2500~3000g 离心，取上清。

④严重黄疸、溶血及乳糜样血清样品：需制备无蛋白血滤液，取血清 0.2ml，加入 1.8ml 的三氯乙酸溶液(5%)，混匀，静置，离心，取上清。

- 2、Glu 加样：取 EP 管，按照下表设置系列孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡；如果样品浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行孔。

A：血清、血浆、脑脊液及清亮的胸腹水、细胞样品、组织样品加样：

| 加入试剂(μl) | 空白孔 | 标准孔 | 测定孔 |
|----------------------------|-----|-----|-----|
| 蒸馏水 | 10 | - | - |
| Glu 标准(5mmol/L) | - | 10 | - |
| 待测样品 | - | - | 10 |
| O-Toluidine 显色液 | 500 | 500 | 500 |
| 密闭，充分混匀，置于沸水浴中煮沸，取出在冷水中冷却。 | | | |

B：严重黄疸、溶血及乳糜样血清样品加样：

| 加入试剂(μl) | 空白孔 | 标准孔 | 测定孔 |
|----------------------------|-----|-----|-----|
| 三氯乙酸溶液(5%) | 10 | 9 | - |
| Glu 标准(5mmol/L) | - | 1 | - |
| 无蛋白血滤液 | - | - | 10 |
| O-Toluidine 显色液 | 500 | 500 | 500 |
| 密闭，充分混匀，置于沸水浴中煮沸，取出在冷水中冷却。 | | | |

- 3、Glu 测定：取 255μl 加至 96 孔板，以空白孔调零，以酶标仪在 630nm 读取标准孔和各测定孔的吸光度。

计算： $Glu(\text{mmol/L}) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 5$

参考区间： 健康成年人空腹葡萄糖：3.9~6.1mmol/L(70~110mg/dl)

备注：Glu 标准(5mmol/L)=90mg/dl

注意事项：

- 待测样品如不能及时测定，应置于 2~8℃ 保存，3 天内稳定。
- 严重黄疸、溶血及乳糜样血清样品需先制备无蛋白血滤液，再进行检测。
- 邻甲苯胺显色液有腐蚀性，请小心操作，如出现结晶、沉淀，置于温水浴溶解即可。
- 沸水浴时沸水一定要盖过管内的液面，否则温度不均匀，影响显色。
- 此法受煮沸时间、比色时间、试剂存放时间等因素的影响，一般不宜以标准曲线法进

行计算，应每次同时做标准管。

- 6、最终反应液如果出现浑浊，最常见原因是高脂血症，可向显色液加入一半量的异丙醇，充分混合，可溶解脂质消除浑浊，所测吸光度乘以 1.5。
- 7、采用酶标仪未调零情况下 Leagene 空白参考范围在 0.03~0.05 之间，5mmol/L 标准参考范围在 0.2~0.3 之间，由于仪器设备、操作方法等不同，参考范围会有差异。
- 8、该试剂盒测定下限为 0.1mmol/L，测定上限为 50mmol/L；以肉眼观察，浓度 \leq 0.6mmol/L 几乎呈无色，浓度在 0.7mmol/L 即可显淡黄绿色，浓度 \geq 3mmol/L 可显青色，浓度 \geq 20mmol/L 可显墨绿色，一般情况下接近上限比接近下限更准确。
- 9、本法线性范围可达 50mmol/L，如果样品葡萄糖浓度过高，结果可能呈假性降低，应用生理盐水或 PBS 等稀释后重测，结果乘以稀释倍数。
- 10、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。