

葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

葡萄糖(Glucose, Dextrose, Glu)又称玉米葡糖，简称葡糖，化学式 C₆H₁₂O₆，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、对葡萄糖有专一性，不受其他糖及还原物的干扰；4、操作简便；5、适用于自动分析仪。

葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)又称葡萄糖氧化酶法或葡萄糖氧化酶-过氧化物酶偶联法等，其检测原理是在葡萄糖氧化酶的催化下，葡萄糖被氧化成葡萄糖酸，同时消耗溶液中的氧，产生的过氧化氢与氧化色原物质反应生成红色的醌类化合物，初始反应中过氧化氢的生成量与葡萄糖浓度成正比，分光光度计 505nm 进行比色测定，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，但不宜直接检测尿液中的葡萄糖含量，其中 Glu 标准(5mmol/L)=90mg/dl。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		规格	保存条件
葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)		200T	4℃
试剂(A): 酚试剂		100ml	RT 避光
试剂(B):	磷酸盐、4-AAP	100ml	-20℃ 避光
酶试剂	GOD、POD		
临用前，酚试剂：酶试剂等比例混匀，即 GOD-POD 工作液，4℃保存。			
试剂(C): Glu 标准(5mmol/L)		1.5ml	4℃
试剂(D): ddH ₂ O		1.5ml	RT
使用说明书		1 份	
有效期		6 个月	

自备材料：

- 1、生理盐水或 PBS
- 2、离心管或 96 孔板

- 3、匀浆机、离心机
- 4、水浴锅或恒温箱
- 5、分光光度计、酶标仪、全自动或半自动生化分析仪

操作步骤(仅供参考):

1、样本处理:

①血清、血浆、脑脊液样品: 从待测样品中分离出的血清或血浆不应有溶血, 直接测定, 如超过线性范围(30mmol/L), 用生理盐水或 PBS 稀释后测定。

②细胞样品:

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

b.用 PBS 或生理盐水清洗 1~2 次, 1000g 离心 10min, 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; 亦可用 1~2% Triton X-100 冰浴 30~60min, 制备好的裂解液不可离心。

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 10min, 取上清。

2、Glu 测定:

酶标仪、全自动生化分析仪 Glu 测定			
加入物(μ l)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ O	3	—	—
Glu 标准(5mmol/L)	—	3	—
待测样品	—	—	3
GOD-POD 工作液	300	300	300
茚三酮显色液	0.3	0.3	0.3
混匀, 沸水浴 30min, 溶液呈红色。			

分光光度计(1ml 比色杯)、半自动生化分析仪 Glu 测定			
加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
ddH ₂ O	0.01	—	—
Glu 标准(5mmol/L)	—	0.01	—
待测样品	—	—	0.01
GOD-POD 工作液	1	1	1
茚三酮显色液	0.3	0.3	0.3
混匀, 沸水浴 30min, 溶液呈红色。			

普通分光光度计(2ml 比色杯)Glu 测定			
------------------------	--	--	--

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
ddH ₂ O	0.02	—	—
Glu 标准(5mmol/L)	—	0.02	—
待测样品	—	—	0.02
GOD-POD 工作液	2	2	2
茚三酮显色液	0.3	0.3	0.3
混匀，沸水浴 30min，溶液呈红色。			

- ①各种仪器按上表依次加入试剂。
- ②充分混匀, 37℃水浴中孵育 15min。
- ③立即用相应仪器测定 505nm 处吸光度，以空白孔(管)调零，读取标准孔(管)、测定孔(管)的吸光度，分别记为 A 标准、A 测定。

机器参数:

主波长	505nm
反应类型	终点法
反应方向	升反应(+)

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

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

性能指标:

外观	无色至淡黄色澄清液体
线性范围	0~30mmol/L, $r > 0.990$
变异系数	批内 < 2~5%, 批间 < 5%
空白吸光值	< 0.2(1cm 光径)
稳定性	密闭, 6 个月

注意事项:

- 1、配制好的 GOD-POD 工作液，4℃避光保存，1 月有效；低温试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降。
- 2、测定标本用血清或以草酸钾-氟化钠抗凝的血浆(可抑制葡萄糖的分解)，可直接用于检测脑脊液中的葡萄糖含量；待测样品如不能及时测定应置于 2~8℃保存，3 天内稳定。
- 3、尿葡萄糖目前多采用此法进行定量测定，但不能直接检测，需先用班氏法对尿液样品做半定量试验，按测出的大概含量，用蒸馏水稀释尿液使葡萄糖含量在 3mg/ml 以下，再进行检测，计算结果乘以稀释倍数即可，因为未经处理的尿液中尿酸等还原性物质的浓度较高，

影响过氧化物酶反应，可能会造成结果假性偏低。

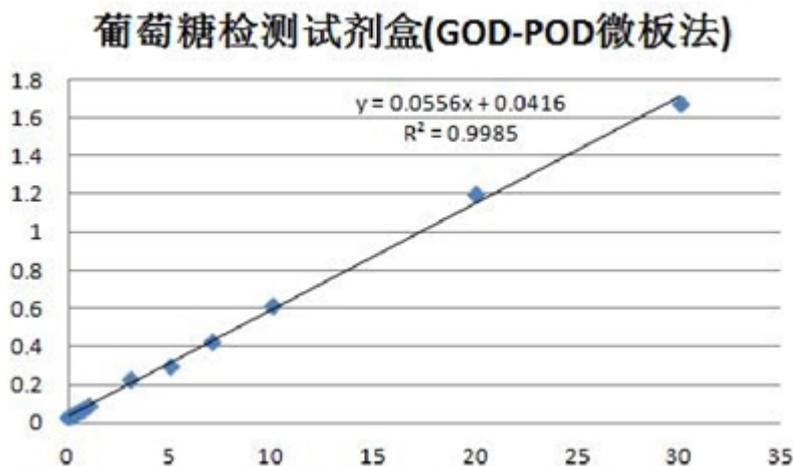
4、随着时间的延长，低浓度样品亦会显红色，所以 15min 后应及时检测，时间不宜过久。

5、采用酶标仪未调零情况下 空白参考范围在 0.04~0.09 之间，5mmol/L 标准参考范围在 0.25~0.45 之间，由于仪器设备、操作方法等不同，参考范围会有差异。

6、该试剂盒测定下限为 0.1mmol/L，测定上限为 30mmol/L；以肉眼观察，浓度 \leq 0.6mmol/L 几乎呈无色，浓度在 0.7mmol/L 即可显淡红色，浓度 \geq 2.5mmol/L 可显红色，一般情况下接近上限比接近下限更准确。

7、本法线性范围可达 30mmol/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。

附录：参考标准曲线范围：测定葡萄糖标准在 0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、1、3、5、7、10、20、30、40、50mmol/L 时吸光度，据此作出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 Glu 含量的，可以采用标准曲线进行多点测定；根据测定经验显示，标准品浓度在 0.1mmol/L 以下，30mmol/L 以上，标准曲线会有偏差。

