# **葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD比色法)**

**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。本试剂盒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。

**产品组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  编号名称 | RC21650 200T | Storage |
| 试剂(A): 酚试剂 | 100ml | RT 避光 |
| 试剂(B):酶试剂 | 磷酸盐、4-AAP、GOD、POD | 100ml | -20℃ 避光 |
| 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): ddH2O | 1.5ml | RT |
| 使用说明书 | 1份 |

**自备材料：**

1. 生理盐水
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

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>106 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200~300ul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% Trition 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。

1. Glu测定

|  |
| --- |
| **酶标仪、全自动生化分析仪Glu测定** |
| 加入物（ul） | 空白孔 | 标准孔 | 测定孔 |
| ddH2O | 3 | - | - |
| Glu标准（5mmol/L） | - | 3 | - |
| 待测样品 | - | - | 3 |
| GOD-POD工作液 | 300 | 300 | 300 |

|  |
| --- |
| **分光光度计（1ml比色杯）、半自动生化分析仪Glu测定** |
| 加入物（ul） | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
| ddH2O | 0.01 | - | - |
| Glu标准（5mmol/L） | - | 0.01 | - |
| 待测样品 | - | - | 0.01 |
| GOD-POD工作液 | 1 | 1 | 1 |

|  |
| --- |
| **普通分光光度计（2ml比色杯）Glu测定** |
| 加入物（ul） | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
| ddH2O | 0.02 | - | - |
| Glu标准（5mmol/L） | - | 0.02 | - |
| 待测样品 | - | - | 0.02 |
| GOD-POD工作液 | 2 | 2 | 2 |

①各种仪器按上表一次加入试剂。

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）、测定空白孔（管）的吸光度，分别记为A标准、A测定。

|  |  |
| --- | --- |
| 主波长 | 505nm |
| 反应类型 | 终点法 |
| 反应方向 | 升反应（+） |

**计算：** Glu(mmol/L)=A 测定/A 标准×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，Leagene 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≤0.6mmol/L 几乎呈无色，浓度在 0.7mmol/L 即可显淡红色，浓度≥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。

**有效期：** -20℃保存，6 个月有效。

**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。