



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

玻璃酸酶测定法

试剂

- (1) 醋酸-醋酸钾缓冲液 取醋酸钾 14g, 冰醋酸 20.5ml, 再加水稀释至 1000ml。
- (2) 磷酸盐缓冲液 取磷酸二氢钠 2.5g、无水磷酸氢二钠 1.0g 与氯化钠 8.2g, 加水溶解至 1000mL。
- (3) 水解明胶 取明胶 50g, 加水 1000ml, 在 121℃加热 90 分钟, 然后冷冻干燥。
- (4) 水解明胶稀释液 取磷酸盐缓冲液与水各 250ml, 加水解明胶 330mg, 摇匀, 在 0~4℃保存。如溶液不发生浑浊, 可继续使用。
- (5) 血清贮备液 取新鲜牛血清或冻干牛血清(先用水溶解并稀释至标示量体积) 1 份, 加醋酸-醋酸钾缓冲液 9 份稀释, 再以 4mol/L 盐酸溶液调节 pH 值至 3.1, 放置 18~24 小时后再用。在 0~4℃保存, 可应用 30 日。
- (6) 血清溶液 血清贮备液中血清总固体(取牛血清适量, 置装有洁净砂粒并在 105℃干燥至恒重的坩埚中, 置水浴上蒸干后, 再在 105℃干燥至恒重) 在 8%左右者, 取 1 份, 用醋酸-醋酸钾缓冲液 3 份稀释; 血清总固体在 5%左右者, 取 1 份, 用醋酸-醋酸钾缓冲液 2 份稀释。临用时制备。
- (7) 玻璃酸钾贮备液 取预先经五氧化二磷减压干燥 48 小时的玻璃酸钾, 加水制成每 1ml 中含 0.5mg 的溶液。在 0℃以下保存, 可应用 30 日。
- (8) 玻璃酸钾溶液 取玻璃酸钾贮备液 1 份, 用磷酸盐缓冲液 1 份稀释。临用时制备。

标准品溶液的制备 精密称取玻璃酸酶标准品适量, 加冷的水解明胶稀释液制成每 1ml 中含 1.5 单位的溶液。临用时制备。

供试品溶液的制备 按供试品的标示量或估计效价精密称取供试品适量, 加冷的水解明胶稀释液制成每 1ml 中含约 1.5 单位的溶液。临用时制备。

标准曲线的制备 取大小相同的试管 12 支, 按顺序加入标准品溶液 0.00ml、0.10ml、0.20ml、0.30ml、0.40ml 与 0.50ml, 各 2 支; 再依次相应加入水解明胶稀释液 0.50ml、0.40ml、0.30ml、0.20ml、0.10ml 与 0.00ml, 每隔 30 秒顺序加入玻璃酸钾溶液 0.50ml, 使每一管的总体积为 1.00ml, 摇匀, 置 37℃±0.5℃水浴中; 每管准确保温 30 分钟后, 每间隔 30 秒钟



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

顺序取出, 立即顺序加入血清溶液 4.0ml, 摇匀, 在室温放置 30 分钟, 摇匀, 在 640nm 的波长处测定吸光度; 同时以磷酸盐缓冲液 0.50ml 代替玻璃酸钾溶液, 加水解明胶稀释液 0.50ml, 摇匀, 按上述方法自“置 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 的水浴中”起同法操作, 作为空白。以吸光度为纵坐标, 标准品溶液的效价(单位)为横坐标绘制标准曲线。

测定法 取大小相同的试管 6 支, 依次加供试品溶液 0.20ml、0.30ml 与 0.40ml, 各 2 支; 再依次相应加入水解明胶稀释液 0.30ml、0.20ml 与 0.10ml, 照标准曲线的制备项下, 自“每隔 30 秒顺序加入玻璃酸钾溶液 0.50ml”起, 依法测定, 自标准曲线上查得效价(单位)后, 分别除以供试品的重量(mg), 算出 6 份供试品的平均数, 即为玻璃酸酶的效价(单位)。