

谷氨酸(Glu)检测试剂盒（分光光度法）

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

Gu 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，不仅是组成蛋白质的 20 种氨基酸之一，而且通过转氨基作用参与多种氨基酸合成，是生物体内主要氨基来源之一。此外，Glu 还是味精的主要有效成分，常用做食品添加剂以及香料生产。

测定原理：

利用专用提取液提取，然后用显色剂进行显色，显色后在 570nm 下进行测定。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃ 保存；临用前加入 10mL 蒸馏水，充分混匀溶解，用不完的试剂仍 4℃ 保存。

谷氨酸提取：

- 1、细菌或培养细胞样品：**先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 1000 万细菌或细胞加入 2mL 试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 常温离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 2、组织样品：**按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.2g 组织，加入 2mL 试剂一），进行冰浴匀浆。8000g 常温离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 3、血清（浆）或细胞培养液样品：**按照血清（浆）或细胞培养液体积（mL）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议取 0.2mL 血清（浆）或者细胞培养液加入 2mL 试剂一），进行冰浴匀浆。8000g 常温离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤:

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 570nm，蒸馏水调零。
- 2、在盖 EP 管中加入下列试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	1000	
试剂一		1000
试剂二	200	200

混匀，90℃水浴 20min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却，于 570nm 波长处比色， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。对照管只要做一管。

谷氨酸含量计算:

- 1、标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0074x - 0.5255$ ；x 为谷氨酸含量 (μg/mL)，y 为吸光值。

- 2、按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸含量}(\mu\text{g/mL}) &= [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) \\ &= 1351 \times (\Delta A + 0.5255) \end{aligned}$$

- 3、按照蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸含量}(\mu\text{g/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \\ &= 135.1 \times (\Delta A + 0.5255) \div Cpr \end{aligned}$$

- 4、按照样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 270.2 \times (\Delta A + 0.5255) \div W \end{aligned}$$

- 5、按照细菌或细胞密度计算

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (1000 \times V1 \div V2) \\ &= 0.27 \times (\Delta A + 0.5255) \end{aligned}$$

V1: 加入反应体系中样本体积，1mL;

V2: 加入提取液体积，2 mL;

V3: 加入血清（浆）或细胞培养液体积，0.2 mL;

Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL;

W: 样本质量，g;

1000: 细菌或细胞总数，1000 万。

注意事项:

- 1、该试剂盒仅适用于发酵液或组织中谷氨酸含量测定，检测下限为 100μg/mL。
- 2、标准曲线线性范围为：100μg/mL -600μg/mL。
- 3、 ΔA 线性范围为：0.01-2；若大于 2 则需要将上清液用试剂一稀释至适当倍数后测定，计算公式中乘以相应稀释倍数。