



叶酸检测国标即用型套装

(产品货号: GVT1001)

版本GFAD [02]01.23

1. 简介

本产品是根据国标GB 5009.211-2022 《食品安全国家标准 食品中叶酸的测定》研制的叶酸检测即用型产品, 每盒产品包含2套试剂, 每套试剂可制备50支试管。

2. 检测原理

叶酸是鼠李糖乳杆菌 *Lactobacillus casei* spp. *rhamnosus* (ATCC 7469) 生长所必需的营养素, 在一定控制条件下, 将鼠李糖乳杆菌液接种至含有试样液的培养液中, 培养一段时间后测定透光率(或吸光度值), 根据叶酸含量与透光率(或吸光度值)的标准曲线计算出试样中叶酸的含量。

3. 套装组成

叶酸标准品(冻干)	2 瓶
叶酸检测菌球(冻干)	2 瓶
叶酸测定培养基添加剂(冻干)	2 瓶
叶酸测定培养基基础	250mL×2 瓶

4. 贮藏条件: 于 2-8℃避光保存一年。

5. 其他试剂、耗材和设备(本套装不提供)

5.1 超净工作台	5.2 恒温培养箱, 37℃ ±1℃
5.3 紫外-可见分光光度计	5.4 高压灭菌锅
5.5 超声波振荡器	5.6 涡旋振荡器
5.7 无菌试管及配套试管架	
5.8 移液枪及无菌枪头, 10-100 μL, 100-1000 μL, 500-5000 μL	5.9 无菌水
5.10 无菌离心管: 15 mL, 50 mL, 需带有旋转盖	
5.11 无菌注射器与 0.22 μm 无菌滤膜	

6. 培养基和标准溶液制备(无菌操作)

6.1 培养基制备:

6.1.1 取 1.1mL 无菌水加入叶酸测定培养基添加剂中, 溶解 3min, 使其充分混匀, 吸取 1mL 加入 250 mL 叶酸测定培养基基础中, 混匀。

6.1.2 取 1 瓶叶酸检测菌球, 加入(6.1.1)培养基中, 混匀后即可使用。

6.2 标准溶液制备:

6.2.1 叶酸标准溶液: 准确吸取 5mL 无菌水于叶酸标准品中, 溶解后充分混匀。

6.2.2 叶酸标准工作液: 准确吸取 2mL 叶酸标准溶液于

8mL 无菌水中, 充分混匀后使用。现用现配。

7. 试样制备

根据国标对应的前处理和稀释方法进行的操作。

8. 测定系列管制备(无菌操作)

8.1 标准系列管

按照表 1 顺序加入无菌水、叶酸标准工作液(6.2.2)和叶酸培养基(6.1.2)于无菌试管中, 混匀。

表 1 标准曲线的制作

试管序号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
无菌水(mL)	5.0	4.975	4.950	4.900	4.850	4.800	4.750	4.700	4.600	4.500
标准工作液(mL)	0.0	0.025	0.050	0.100	0.150	0.200	0.250	0.300	0.400	0.500
培养基(mL)	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00

为保证标准曲线的线性关系, 应制备 2 套-3 套标准系列管。

8.2 试样和酶空白系列管

将制备好的样品稀释液用 0.22μm 无菌滤膜过滤, 按照表 2 顺序加入无菌水、无菌样品溶液和叶酸培养基(6.1.2)于无菌试管中, 混匀。

表 2 待测液的制作

试样管序号	1	2	3
无菌水(mL)	4.00	3.00	2.00
无菌样品溶液(mL)	1.00	2.00	3.00
培养基(mL)	5.00	5.00	5.00

9. 培养

于 37℃±1℃恒温培养箱中避光培养 44h-48h 至获得最大浑浊度(务必培养到生长终点)。

10. 测定

将培养好的标准系列管、试样和酶空白系列管用漩涡混匀器混匀, 用酶标仪或厚度为 1cm 比色杯, 于 540nm 处测定。

注: 叶酸测定适宜的光谱范围 540-610nm。

11. 分析结果表述

根据国标法进行结果分析:

11.1 标准曲线: 以标准系列管叶酸含量为横坐标, 每个标准点透光率(或吸光度值)均值为纵坐标, 绘制标准曲线。

11.2 试样结果计算:

从标准曲线查得试样或酶空白系列管中叶酸的相应含量(c_x), 如果 3 支试样系列管中有 2 支叶酸含量在 0.10ng-0.8ng 范围内, 且各管之间叶酸含量偏差<10%, 则按公式(1)、(2)、(3)进行结果计算:

$$\text{试样稀释液叶酸浓度: } c = \frac{CX}{VX} \quad (1)$$

c — 试样稀释液中叶酸浓度 ng/mL;

c_x — 标准曲线上查得试样系列管中叶酸含量 ng;
 v_x — 制备试样系列管时吸取的试样稀释液体积 mL。

采用直接提取法的试样叶酸含量按式 (2) 计算:

$$X = \frac{\bar{c} \times V \times f}{m} \times \frac{100}{1000} \quad (2)$$

X — 样品中叶酸含量 $\mu\text{g}/100 \text{ g}(\text{mL})$;
 \bar{c} — 试样稀释液叶酸浓度平均值 ng/mL ;
 V — 试样提取液定容体积 mL;
 f — 试样提取液稀释倍数;
 m — 试样质量 g;
 $\frac{100}{1000}$ — 单位换算系数。

采用酶解提取法的试样叶酸含量按式 (3) 计算:

$$X = \frac{(\bar{c} \times f - \bar{c}_0) \times V}{m} \times \frac{100}{1000} \quad (3)$$

X — 样品中叶酸含量 $\mu\text{g}/100 \text{ g}(\text{mL})$;
 \bar{c} — 试样稀释液叶酸浓度平均值 ng/mL ;
 f — 试样提取液稀释倍数;
 \bar{c}_0 — 酶空白液中叶酸浓度平均值 ng/mL ;
 V — 试样提取液定容体积 mL;
 m — 试样质量 g;
 $\frac{100}{1000}$ — 单位换算系数。

以重复条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示, 结果保留三位有效数字。

北京陆桥技术股份有限公司

地址: 北京市朝阳区高碑店北路甲 3 号 (100123)

山东: 青岛市市北区台柳路 177 号和达中心 A 座 703 室 (266033)

广东: 广州市番禺区石北工业路金河产业园 A 栋东 4 楼 (511400)

东北: 哈尔滨市松北区科技创新城创新一路 2727 号国乳中心 808 室

成都: 四川省成都高新西区中海国际橙郡一期 1 栋 1 单元 204 (610096)

上海: 上海市漕河泾松江新兴产业园区研展路 455 号 B 座 4 层 406 室

销售热线: 010-51203999 0532-82689263

020-38011430 0451-87821139

网 址: www.beijinglandbridge.com

E-mail: tech_e@beijinglandbridge.com