

## 甘油含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYFA2-M48	甘油含量检测试剂盒	48T	微量法
AYFA2-M96		96T	

### 一、测定意义：

甘油是生物体内重要的代谢中间体，广泛参与脂肪分解、糖异生及能量代谢过程。其浓度的测定在临床医学、食品工业、生物工程、环境监测等领域具有重要价值。

### 二、测定原理：

甘油激酶（GK）催化甘油磷酸化，甘油在 ATP 供能下生成甘油-3-磷酸，为后续氧化反应提供底物。甘油-3-磷酸氧化酶（GPO）催化氧化反应，甘油-3-磷酸被氧化为二羟丙酮磷酸，同时生成过氧化氢（ $H_2O_2$ ）。过氧化物酶（POD）催化显色反应。 $H_2O_2$  与色原底物（4-AAP 和 TOOS）在 POD 催化下生成红色醌亚胺化合物，其颜色深度与  $H_2O_2$  浓度（即甘油浓度）成正比。在 540 nm 波长下测定显色产物的吸光度。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	-20℃保存
<b>试剂二的配制：</b> 用时每瓶粉剂加入提取液 1.2mL，混匀充分溶解，-20℃保存 1 周，避免反复冻融。			
试剂三	液体 0.006mL×1 瓶	液体 0.006mL×2 瓶	-20℃保存
<b>试剂三的配制：</b> 用时每支试剂加入蒸馏水 1.194mL，混匀充分溶解，-20℃保存 1 周，避免反复冻融。			
试剂四	液体 0.012mL×1 瓶	液体 0.012mL×2 瓶	-20℃保存
<b>试剂四的配制：</b> 用时每支试剂加入蒸馏水 1.188mL，混匀充分溶解，-20℃保存 1 周，避免反复冻融。			
试剂五	液体 0.04mL×1 瓶	液体 0.04mL×2 瓶	-20℃保存

**试剂五的配制：**用时每支试剂加入蒸馏水 1.16mL，混匀充分溶解，-20℃保存 1 周，避免反复冻融。

试剂六	液体 1.2mL×1 瓶	液体 1.2mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂七	液体 1.2mL×1 瓶	液体 1.2mL×2 瓶	2-8℃保存
标准品 (100mmol/L)	液体 1mL ×1 支	液体 1mL ×2 支	2-8℃保存

**注：**将试剂一、试剂二、试剂三、试剂四、试剂五、试剂六、试剂七按 4：1：1：1：1：1：1 的比例配制为工作液，混合均匀，现用现配。

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

- 1、组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量  $10^4$  个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
- 3、液体样本：（如血清）直接测定。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至室温；
- 3、将 100μmol/mL 标准品用**试剂一**依次稀释至 0、0.1、0.2、0.4、0.6、1、1.5μmol/mL，备用；
- 4、操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样品（μL）	10	-	-
双蒸水（μL）	-	-	10
不同浓度标准品（μL）	-	10	-
工作液（μL）	200	200	200

37℃避光孵育 1h，混合均匀，显色稳定后于 540nm 读数（30min 内读数）。测定 540nm 处吸光值，别记为  $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。  
计算  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）

## 五、甘油含量测定：

1、标准曲线绘制：以  $\Delta A_{\text{标准}}$  为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入公式计算出样本浓度（y， $\mu\text{mol/mL}$ ）；

2、按液体样本体积计算

**计算公式：**甘油（ $\mu\text{mol/mL}$ ）= y

3、按样本蛋白浓度计算

**计算公式：**甘油（ $\mu\text{mol/mg prot}$ ）=  $y \div (V_{\text{样总}} \div \text{Cpr}) = y \times \text{Cpr}$

4、按样本鲜重计算

**计算公式：**甘油（ $\mu\text{mol/g}$ ）=  $y \div (V_{\text{样总}} \div W) = y \times W$

5、按照细菌或细胞数量计算

**计算公式：**甘油（ $\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}$ ）=  $y \div (V_{\text{样总}} \div N) = y \times N$

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌或细胞总数，以万计。

## 六、 注意事项：

实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

## 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日