

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

试剂二的配制：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
-----	----------------	----------------	--------

试剂三的配制：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
-----	----------------	----------------	--------

试剂四的配制：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 100 μ mol/mL 标准品用试剂一依次稀释至 0、0.1、0.2、0.4、0.6、1、1.5 μ mol/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 (μ L)	10	-	-
双蒸水 (μ L)	-	-	10
不同浓度标准品 (μ L)	-	10	-
工作液 (μ L)	200	200	200

37°C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_{标准}、A_{空白}、A_{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_{样总} \div Cpr)=y \times Cpr

4、按样本鲜重计算

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

V_{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