

# 甘油含量 (Glycerol) 测定试剂盒

酶标法 300T

## 一、测定原理:

在 ATP 存在下甘油被甘油激酶磷酸化为 3-磷酸甘油, 再被甘油磷酸氧化酶氧化产生过氧化氢; 在过氧化氢酶作用下生色底物转化为苯醌亚胺, 光密度值与甘油浓度成正比。

二、产品用途: 测定血液、细胞培养基、体液、酒类饮料中的甘油。

## 三、试剂组成及配制:

试剂组成	规格	保存条件
R1	40 ml×1 瓶	本试剂盒 4℃避光保存, 有效期 3 个月
R2	10 ml×1 瓶	
4mM 甘油标准品	1ml×1 支	

工作溶液的配制: 按 R1:R2= 4:1 比例, 即取 4ml 试剂 R1 与 1ml 试剂 R2 混合, 现用现配,用多少配多少可供 300~500 次微板测定或 100 次 1 ml 比色杯测定。

## 四、所需设备:

酶标仪、可见光分光光度计 (721、722 型)、生化分析仪。

## 五、操作过程:

### 1、样本处理

### 2、标准品稀释:

用蒸馏水、生理盐水或与样品缓冲液一致的液体, 将 4 mM 甘油标准品倍比稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125  $\mu\text{mol/L}$ , 通常 4~6 管即可, 注意设置 0 浓度对照反应管。

### 3、甘油测定

表 1 酶标微板测定的加样比例 (检测范围 10~1200  $\mu\text{mol/L}$ )

(可微量调整样品与工作液体积比例)

	培养基或低甘油浓度样品测定			高甘油浓度样品测定		
	空白管	标准管	测定管	空白管	标准管	测定管
蒸馏水/生理盐水	50 $\mu\text{l}$			5 $\mu\text{l}$		
标准品		50 $\mu\text{l}$			5 $\mu\text{l}$	
样品			50 $\mu\text{l}$			5 $\mu\text{l}$
工作溶液	150 $\mu\text{l}$	150 $\mu\text{l}$	150 $\mu\text{l}$	195 $\mu\text{l}$	195 $\mu\text{l}$	195 $\mu\text{l}$

表 2 1ml 比色杯测定的加样比例 (检测范围 10~1200  $\mu$  mol/L)

	培养基或低甘油浓度样品测定			高甘油浓度样品测定		
	空白管	标准管	测定管	空白管	标准管	测定管
蒸馏水/生理盐水	200 $\mu$ l			50 $\mu$ l		
标准品		200 $\mu$ l			50 $\mu$ l	
样品			200 $\mu$ l			50 $\mu$ l
工作溶液	600 $\mu$ l	600 $\mu$ l	600 $\mu$ l	750 $\mu$ l	750 $\mu$ l	750 $\mu$ l

## 六、计算：

绘制标准曲线并计算甘油浓度。Excel 作图步骤：各标准管 OD 值为 y 轴，标准品浓度为 x 轴。(1) 鼠标左键圈住数据，点击做图向导，选择-散点图-，点击-完成。(2) 鼠标右键点图上的某一点，点击-添加趋势线-，点击-选项-，点击-显示公式-和-R2 值-。