

## 甘油 (Glycerol) 含量测定试剂盒说明书

(货号: G0912W 微板法 96 样)

### 一、产品简介:

甘油储存于脂肪细胞中是甘油三酯代谢的最终产物之一。在生产、生活中甘油可用作溶剂, 润滑剂, 药剂和甜味剂。

甘油被甘油激酶(GK)的催化生成甘油-1-磷酸(G-1-P)。G-1-P 被甘油磷酸氧化酶(GPO)氧化生成过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 与 4-氨基氨替吡啶等反应生成红色醌类化合物, 其在 510nm 处有特征吸收峰, 通过检测 510nm 处吸光值即可得出甘油含量。

### 二、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×1 支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部, 再加 4.2mL 蒸馏水, 充分震荡混匀溶解。
试剂二	液体 9mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 mL×1 支	4℃保存	用前用水稀释 10 倍即成 4mM 甘油标准品待检测液。

### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液枪、离心机、研钵、蒸馏水。

### 四、甘油含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 1、样本制备:

##### ① 组织样本:

称取约 0.1g 组织样本加入研钵中, 加入 1mL 提取液, 在冰上进行匀浆, 12000rpm, 4℃或室温离心 10min, 取上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

##### ② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10<sup>4</sup>): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

##### ③ 液体样本: 澄清的液体样本直接测定, 若浑浊则离心后取上清检测。

#### 2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 调节波长到 510 nm。

② 所有试剂解冻至室温 (25℃)。

③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
标准品		10	
蒸馏水			10
样本	10		

试剂一	40	40	40
试剂二	90	90	90
试剂三	60	60	60
混匀，室温（25℃）避光孵育 30min，于 510nm 读取各管 A 值（直到 A 值不变）。			

## 五、结果计算：

### 1、按样本质量计算：

$$\text{甘油} (\mu\text{mol/g 重量}) = (\text{C 标准} \times \text{V2} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V})) \times \text{D} \\ = 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D}$$

$$\text{甘油} (\mu\text{g/g 重量}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ = 368.36 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D}$$

### 2、按细胞数量计算：

$$\text{甘油} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ = 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div 500 \times \text{D}$$

$$\text{甘油} (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ = 368.36 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div 500 \times \text{D}$$

### 3、液体中甘油含量计算：

$$\text{甘油} (\text{mmol/L}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ = 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}$$

$$\text{甘油} (\mu\text{g/mL}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ = 368.36 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}$$

C 标准---4mmol/L=4μmol/mL=368.36μg/mL； V---提取液体积，1mL；

V1---样本加入体积，0.01mL；

V2---标准品加入体积，0.01mL；

500---细胞数量，万；

D---稀释倍数,未稀释即为 1；

W---样本取样质量，g。