

液体样本甘油三酯酶法测定试剂盒 E1003

描述: 甘油三酯是由甘油和脂肪酸酯化而成, 是血脂的主要成分, 也是机体重要的供能物质。高甘油三酯和高胆固醇血症是临床常见的高脂血症, 与许多疾病相关。本试剂盒应用甘油磷酸氧化酶法与经典的 GPO Trinder 酶学反应原理可以对血液和食品饮料中的甘油三酯含量进行测定, 符合世界卫生组织 (WHO)、美国 FDA、中国《全国临床检验操作规程》规定的甘油三酯临床检验标准, 灵敏度高, 检测范围为 20-2000 μ mol/L。

原理: (1) 脂肪酶分解血清中的甘油三酯为甘油;
(2) 甘油激酶将甘油磷酸化为 3-磷酸甘油; (3) 3-磷酸甘油被甘油磷酸氧化酶氧化产生过氧化氢; 在过氧化物酶作用下生色底物转化为苯醌亚胺, 其光密度值与甘油浓度成正比。

适用范围: 测定血液、食品饮料中甘油三酯的含量。

组成: (250 次)

- (1) R1 试剂 40 ml
- (2) R2 试剂 10 ml
- (3) 4 mmol/L 甘油标准品 1 ml
4 $^{\circ}$ C, 储存 6 个月。

所需设备: 酶标仪、生化分析仪或 721、722 型可见分光光度计。最佳工作波长 550nm, 如无此波长建议优先选用 570nm、次选 530、490nm。

操作步骤:

一 样本处理:

1. **饮品、清澈液体样本:** 可直接进行测定, 如超过线性范围可用蒸馏水或生理盐水稀释后再进行测定。
2. **血液:** 新鲜血液 4 $^{\circ}$ C, 2000 g 离心 5 min 得到血浆, 非抗凝血 4 $^{\circ}$ C 放置 2 小时得到血清后才能用于甘油三酯的测定。如超过线性范围用生理盐水 1:1~1:5 稀释后测定, 然后根据稀释倍数计算浓度。

二 工作溶液配制: 按 4:1 比例, 取 4 ml 试剂 R1 与 1 ml 试剂 R2 混合即可, 立即使用或 4 $^{\circ}$ C 保存 <1 天, 变色弃去。

三 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 μ mol/L, 通常取其中 4~6 管即可, 注意

设置 0 浓度对照反应管。

四 甘油三酯浓度测定:

1. 参见下表进行加样。允许稍微增加或减少样品的加入量, 并同时调整工作液体积。
2. 37 $^{\circ}$ C 或 25 $^{\circ}$ C 反应 15 分钟。反应平衡后颜色在 60 分钟内稳定。
3. 先用蒸馏水+工作液的空白管调零, 然后测定各管 OD 值。
4. 绘制标准曲线并计算甘油浓度。
附 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-。

加样比例 (检测范围 20-2000 μ mol/L)

(可对样品和工作液比例进行微量调整)

	96 孔微板测定			1 ml 比色杯测定		
	空白管	标准品	样品	空白管	标准品	样品
蒸馏水 μ l	30			210	160	160
标准品 μ l		30			50	
样品 μ l			30			50
工作液 μ l	170	170	170	590	590	590

注: 进行微板测定时标准品的体积可调整范围 10-100 μ l, 使用分光光度计测定时标准品的体积也可随之进行调整。

说明:

1. 在中国一般而言, 正常人血清中甘油三酯含量范围为 0.56-1.7mmol/L (62-150mg/dl), 血清中甘油浓度约为 0.11mmol/L (10mg/dl)。
2. 维生素 C > 0.18g/L、血红蛋白 > 2g/L、胆红素 > 0.25g/L、强还原剂二硫苏糖醇、巯基乙醇等会干扰测定。肝素和 EDTA 在抗凝时的用量不会干扰测定。
3. 样本即使保存在 -20 $^{\circ}$ C 的环境下, 甘油三酯也会自发水解。因此建议样品 4 $^{\circ}$ C 保存时间应短于 24 小时, 当 -70 $^{\circ}$ C 保存是, 也应不超过 1 个月。
4. 如果室温较低, 应延长反应时间或在 37 $^{\circ}$ C 进行反应。
5. 如果要测定组织细胞内甘油三酯的含量, 请选择使用 E1013, 组织细胞甘油三酯酶法测定试剂盒。

参考文献:

1. Trinder, P. (1969). Ann. Clin. Biochem. 6: 24 - 27.
2. Barham D and Trinder P. (1972). Analyst 97: 142 - 145