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 20-2000µmol/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 ℃,储存 6 个月。

所需设备: 酶标仪、生化分析仪或 721、722 型可见光分光光度计。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。
- 血液: 新鲜血液 4℃, 2000 g 离心 5 min 得到 血浆,非抗凝血 4℃ 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℃ 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 μmol/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。
- 37℃或25℃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- R^2 值-。

加样比例(检测范围 20-2000μmol/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 μl	10			35		
标准品 μl		10			35	
样品μl			10			35
工作液 μl	190	190	190	665	665	665

注:进行微板测定时标准品的体积可调整范围 10-100µl,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。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℃的环境下,甘油三酯也会自发水解。因此建议样品4℃保存时间应短于24小时,当-70℃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℃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