

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0689

Size: 50T/48S

## 甘油三酯 (TG) 含量检测试剂盒说明书

## 可见分光光度法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

## 一、测定意义:

TG 是长链脂肪酸和甘油形成的脂肪分子,不仅是细胞膜的主要成分,也是重要呼吸底物。

## 二、测定原理:

用异丙醇抽提取 TG, KOH 皂化 TG 后水解生成甘油及脂肪酸, 过碘酸氧化甘油生成甲醛, 在氯离子存在下甲醛与乙酰丙酮缩合生成黄色物质, 在 420nm 有特征吸收峰, 其颜色的深浅与 TG 含量成正比。

## 三、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液枪、1mL 玻璃比色皿、双蒸水和 100mL 玻璃空瓶。

## 四、试剂的组成和配置:

| 种类  | 试剂规格          | 储存条件     | 使用方法及注意事项                                           |
|-----|---------------|----------|-----------------------------------------------------|
| 试剂一 | 自备            |          | 取 100mL 玻璃空瓶, 加入 45mL 正庚烷, 45mL 异丙醇, 盖紧后混匀, 4°C 保存。 |
| 试剂二 | 液体 7mL × 1 瓶  | 4°C 保存   |                                                     |
| 试剂三 | 液体 30mL × 1 瓶 | 4°C 保存   |                                                     |
| 试剂四 | 液体 10mL × 1 瓶 | 4°C 避光保存 |                                                     |
| 试剂五 | 液体 30mL × 1 瓶 | 4°C 避光保存 |                                                     |
| 试剂六 | 液体 30mL × 1 瓶 | 4°C 避光保存 |                                                     |
| 标准品 | 粉剂 × 1 瓶      | 4°C 保存   | 临用前加 5mL 试剂一, 即 1mg/mL 甘油三酯标准溶液, 4°C 保存。            |

## 五、操作步骤：

### ● TG 的提取：

- 1、组织：按照组织质量 (g)：试剂一体积 (mL) 为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一）进行冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清待测。
- 2、细胞、细菌：先收集 400-500 万细胞或细菌到离心管内，弃上清，加 1mL 试剂一，超声波破碎 1min（强度 20%，超声 2s，停 1s）8000g，4℃离心 10min，取上清待测。
- 3、血清（浆）等液体样品：直接测定。

### ● 测定操作：

1. 分光光度计预热 30min，调节波长到 420nm，蒸馏水调零。
2. 水浴锅预热到 65℃。

| 试剂名称 (μL)  | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
|------------|-----|-----|-----|
| 双蒸水        | 200 |     |     |
| 1mg/mL 标准液 |     | 200 |     |
| TG 待测液     |     |     | 200 |
| 试剂一        | 625 | 625 | 625 |
| 试剂二        | 125 | 125 | 125 |

加试剂一后充分混匀，再加试剂二，剧烈振荡 30s，静置，待分层后取上层溶液 75μL，置于新的EP管中。

## 六、甘油三酯含量测定：

| 试剂名称 (μL)        | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
|------------------|-----|-----|-----|
| 上层溶液             | 75  | 75  | 75  |
| 试剂三              | 250 | 250 | 250 |
| 试剂四              | 75  | 75  | 75  |
| 充分混匀，65℃水浴 3min  |     |     |     |
| 试剂五              | 250 | 250 | 250 |
| 试剂六              | 250 | 250 | 250 |
| 充分混匀，65℃水浴 15min |     |     |     |

取出 EP 管，待冷却后，于 420nm 处比色，记为 A 空，A 标和 A 测。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

## 七、计算公式：

### 1. 血清（浆）中甘油三酯含量：

TG 含量 (mg/dL) = C 标准品 × (A 测 - A 空) ÷ (A 标 - A 空) × 100

= 100 × (A 测 - A 空) ÷ (A 标 - A 空)

C 标准品：标准品浓度，1mg/mL；100：单位换算系数，1dL=100mL。

### 2. 组织中甘油三酯含量：

#### (1) 按样本蛋白浓度计算

TG 含量 (mg/mg prot) = C 标准品 × V × (A 测 - A 空) ÷ (A 标 - A 空) ÷ (Cpr × V)

= (A 测 - A 空) ÷ (A 标 - A 空) ÷ Cpr

## (2) 按样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{TG 含量 (mg/g 鲜重)} &= C \text{ 标准品} \times V \times (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \div W \\ &= (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \div W\end{aligned}$$

C 标准品: 1mg/mL ; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g ;V: 加入试剂一的体积, 1mL。

## 3. 细胞、细菌中甘油三酯含量:

$$\begin{aligned}\text{TG 含量 (mg/10}^4\text{cell)} &= C \text{ 标准品} \times (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \div \text{细菌或细胞密度} \\ &= (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \div \text{细菌或细胞密度}\end{aligned}$$

C 标准品: 标准品浓度, 1mg/mL; 细菌或细胞密度:  $10^4$  cell/mL

## 八、注意事项:

1. 试剂盒中有易挥发性物质, 实验过程中需佩戴手套和口罩, 试剂瓶盖打开后应该及时盖紧。
2. 加试剂二后需剧烈震荡, 使待测液中甘油三酯得到充分提取。
3. 最低检出限为 100 $\mu$  mol/L。