

# $\beta$ -羟丁酸含量（酶比色法）检测试剂盒说明书

（微板法 48 样）

## 一、产品简介：

$\beta$ -羟丁酸在检测糖尿病酮症酸中毒诊断、治疗中有重要意义，对糖尿病的早期诊断也有重要意义。

$\beta$ -羟丁酸在 $\beta$ -羟丁酸脱氢酶催化下生成乙酰乙酸。同时氧化型辅酶I被还原成还原型辅酶I即 NADH，NADH 接着与 WST-8 显色剂生成于 450nm 有特征吸收峰的物质，通过检测该黄色物质于 450nm 处的增加量，即可计算出样本中 $\beta$ -羟丁酸含量。

## 二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 mg $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C 保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水溶解备用，用不完的试剂仍 4 $^{\circ}$ C 保存；
试剂二	液体 $\mu$ L $\times$ 1 支	-20 $^{\circ}$ C 保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 0.5mL 蒸馏水混匀，分装后于 -20 $^{\circ}$ C 保存；
试剂三	液体 1mL $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C 保存	
试剂四	液体 18mL $\times$ 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
标准品	液体 2mL $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C 保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

## 三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

## 四、 $\beta$ -羟丁酸含量检测：

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：

澄清的液体样本可直接检测。若溶液有浑浊可离心后进行测定。

### 2、上机检测：

- ① 酶标仪预热 30min，设定波长到 450nm。
- ② 所有试剂解冻至室温，试剂一和二和三可按照 10:10:10 比例混成混合液直接加 30 $\mu$ L 即可（需注意对照管不加试剂二，所以试剂一和二和三不要一次性混合完），在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	对照管	空白管 （仅测一次）
试剂一	10	10	10
试剂二	10		10
试剂三	10	10	10
试剂四	170	180	170
样本	10	10	
蒸馏水			10
混匀，37 $^{\circ}$ C 孵育 10min 后，于 450nm 处读取各管吸光度 A。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个测定管做一个自身对照）。			

【注】1.

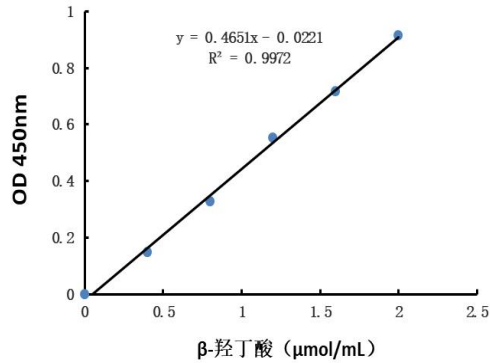
若  $\Delta A$  值小于

0.01, 可增加样本取样量  $V_1$  (如增至  $30\mu\text{L}$ , 则试剂三相应减少, 总体积不变), 则改变后的  $V_1$  需代入公式重新计算。

2. 若 A 测定管值大于 1.2, 可降低样本取样量  $V_1$  (如降至  $5\mu\text{L}$ , 则试剂三相应增加, 总体积不变), 则改变后的  $V_1$  需代入公式重新计算。

## 五、结果计算:

1、标准曲线方程:  $y = 0.4651x - 0.0221$ ;  $x$  为标准品浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ ),  $y$  为吸光值  $\Delta A$ 。



2、 $\beta$ -羟丁酸含量( $\text{mmol/L}$ )= $(\Delta A + 0.0221) \div 0.4651 \times V_{\text{标}} \div V_1 = 2.15 \times (\Delta A + 0.0221)$

$V_{\text{标}}$ ---做标曲时标准品加样体积,  $0.01\text{mL}$ ;  $V_1$ ---液体样本加体积,  $0.01\text{mL}$ ;  
 $\mu\text{mol/mL}$ ---即是  $\text{mmol/L}$ 。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 ( $10\mu\text{mol/mL}$ )。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品:  $0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2. \mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样顺序操作, 依据结果制作标准曲线。