

β-羟丁酸含量（酶比色法）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-F-D015 分光法 48 样）

一、产品简介：

β-羟丁酸在β-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，通过检测 NADH 在 340nm 处的增加量，即可计算出样本中β-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 1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.6mL 蒸馏水溶解备用，用不完的试剂仍 4℃保存；
试剂二	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 1 支	-20℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.5mL 蒸馏水混匀，分装后于-20℃保存；
标准品	粉体 1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 2mL 蒸馏水溶解即标准品浓度为 100 mmol/L；再用蒸馏水稀释 5 倍成 20mmol/L 备用检测。

三、所需仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、β-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：

- ① 液体样品：澄清的液体样本可直接检测。
- ② 组织样本：0.1g 样本（水分充足的样本建议取 0.2g 左右），加 1mL 生理盐水或者磷酸缓冲液研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

2、上机检测：

- ① 紫外分光光度计预热 30min，设定波长到 340nm，蒸馏水调零。
- ② 所有试剂解冻至室温，在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	标准管（仅测一次）	空白管（仅测一次）
样本	40		
标准品		40	
蒸馏水			40
试剂一	30	30	30
试剂二	600	600	600
混匀，37℃孵育 5min 后，于 340nm 处读取各管吸光度 A1。			
试剂三	30	30	30
混匀，37℃孵育 10min 后，于 340nm 处读取各管吸光度 A2。 $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】若 ΔA 值小于 0.01，可增加样本取样量 V1（如增至 80μL，则试剂二相应减少，

总体积不变)，则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\beta\text{-羟丁酸}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\Delta\text{A 测定} - \Delta\text{A 空白}) \div (\Delta\text{A 标准} - \Delta\text{A 空白}) \div \text{V1} \\ &= 20(\Delta\text{A 测定} - \Delta\text{A 空白}) \div (\Delta\text{A 标准} - \Delta\text{A 空白})\end{aligned}$$

2、按照组织质量计算：

$$\begin{aligned}\beta\text{-羟丁酸}(\text{mmol/g 重量}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\Delta\text{A 测定} - \Delta\text{A 空白}) \div (\Delta\text{A 标准} - \Delta\text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \\ &= 20 \times (\Delta\text{A 测定} - \Delta\text{A 空白}) \div (\Delta\text{A 标准} - \Delta\text{A 空白}) \div \text{W}\end{aligned}$$

3、按照蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned}\beta\text{-羟丁酸}(\text{mmol/mg prot}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\Delta\text{A 测定} - \Delta\text{A 空白}) \div (\Delta\text{A 标准} - \Delta\text{A 空白}) \\ &\quad \div (\text{Cpr} \times \text{V1} \div \text{V}) \\ &= 20 \times (\Delta\text{A 测定} - \Delta\text{A 空白}) \div (\Delta\text{A 标准} - \Delta\text{A 空白}) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，20mmol/L；

V 标---标准品取样体积，0.04mL；

V1---取样体积，0.04mL；

V---加入提取液体积，1mL；

W---样本鲜重，g；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。