

## β-羟丁酸含量（酶比色法）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-D015-48 微板法 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°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 0.6mL 蒸馏水溶解备用，用不完的试剂仍 4°C保存；
试剂二	液体 9mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 1 支	-20°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 0.55mL 蒸馏水混匀，分装后于-20°C保存；
标准品	粉体 1 支	4°C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：

酶标仪、96 孔板、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 组织（水分充足的样本建议取 0.2g 左右），加 1mL 的生理盐水或磷酸缓冲液研磨，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 酶标仪预热 30min，设定波长到 340nm。
- ② 所有试剂解冻至室温，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅测一次)	空白管 (仅测一次)
样本	10		
标准品		10	
蒸馏水			10
试剂一	10	10	10
试剂二	170	170	170
混匀，37°C 孵育 5min 后，于 340nm 处读取各管吸光度 A1。			
试剂三	10	10	10
混匀，37°C 孵育 10min 后，于 340nm 处读取各管吸光度 A2。ΔA=A2-A1。			

【注】若ΔA 值小于 0.01，可增加样本取样量 V1（如增至 50μL，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：

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

### 2、按照组织质量计算：

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

### 3、按照蛋白浓度计算：

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

C 标准---标品浓度， 20mmol/L；

V 标---标准品取样体积， 0.01mL；

V1---取样体积， 0.01mL；

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。