

直接胆红素（DBIL）（化学氧化法）含量检测试剂盒

（货号：ADS-W-D017 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

直接胆红素（DBIL）在钼酸作用下被氧化，生成胆绿素，测定在 450nm 处吸光度的减少与直接胆红素浓度成正比，以求得直接胆红素的含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准管	粉剂 1 支	4℃避光保存	每支： 1. 临用前 8000g 4℃离 2min 使试剂落入管底； 2. 加 0.1ml 蒸馏水，一周内用完，配成的浓度见标签。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、天平、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

① 新鲜血清，应在收集后 2 小时内检测。

稳定性：2-8℃避光保存可稳定 12 小时，-20℃避光保存稳定 3 个月。 注意避免溶血并避光保存。

2、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min（等待仪器过自检程序亦可），设定波长到 450nm；

② 所有试剂解冻至室温，在 96 孔板中依次加入：

试剂组分（μL）	测定管	空白管 （仅做一次）	标准管 （仅做一次）
样本	7		
蒸馏水		7	
标准品			7
试剂一	200	200	200
混匀，37℃孵育 5min 后，于 450nm 处读取 A1。			
试剂二	50	50	50
混匀，37℃孵育 5min 后，于 450nm 处读取 A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。			

【注】：1.若 ΔA 值小于 0.005，可增加样本加样体积 V1（如由 7μL 增至 15μL，空白管也由 7μL 增至 15μL 蒸馏水，标准管为 7μL+8μL 蒸馏水（总体积同测定管和空白管即 15μL）；其他试剂均保持不变），则改变后的 V1 代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\text{直接胆红素 (DBIL)} (\mu\text{mol/L}) &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div V_1 \times D \\ &= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \times D\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，见标签；

V1---加入样本体积，0.007mL；

V2---加入标准品体积，0.007mL；

D---稀释倍数，未稀释即为1。