

酮体含量检测试剂盒（血清、血浆、尿液等）（微量法）

产品货号：BA1905

产品规格：100T/96S

产品简介：

酮体是肝脏脂肪酸氧化分解的中间产物乙酰乙酸（AcAc）、 β -羟丁酸（BOH）及丙酮三者统称。酮体中丙酮的生成量相当小，生成后即被吸收。乙酰乙酸和 β -羟丁酸则经血流进入肝外组织，在此被氧化，经柠檬酸循环提供更多能量给那些组织使用，例如骨、心肌和肾皮质。

在pH7.0和37℃条件下，BOH在 β -羟丁酸脱氢酶（HBDH）催化下脱氢生成乙酰乙酸，同时NAD⁺被还原成NADH；在pH 8.8和37℃条件下，AcAc被HBDH还原为3-羟基丁酸酯或脱羧生成丙酮，同时NADH被氧化成NAD⁺，NADH在340nm波长下有特征吸收峰，通过检测在340nm波长下的吸光值变化可以计算出BOH和AcAc的含量，从而计算出样本中酮体的含量。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一A液	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂一B液	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂二A液	粉剂×2支	-20℃
试剂二B液	粉剂×2支	-20℃
试剂三	粉剂×2支	-20℃
标准品1	粉剂×1支	2-8℃
标准品2	粉剂×1支	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂二A液：临用前取一支加入600 μ L蒸馏水，充分溶解。用不完的试剂分装后-20℃可保存3周。避免反复冻融；
2. 试剂二B液：临用前取一支加入300 μ L蒸馏水，充分溶解。用不完的试剂分装后-20℃可保存3周。避免反复冻融；
3. 试剂三：临用前取一支加入400 μ L蒸馏水（100T/96S），充分溶解。用不完的试剂分装后-20℃保存，可以保存3周。避免反复冻融；
4. 标准品1：8mg 3-羟基丁酸钠。临用前加入0.98mL蒸馏水，充分溶解，即8mg/mL 3-羟基丁酸钠标准溶液，2-8℃可以保存4周。临用前根据试验所需量用蒸馏水稀释成0.2mg/mL标准溶液待用，即为标准溶液1；
5. 标准品2：8mg 乙酰乙酸锂。临用前加入0.95mL蒸馏水，充分溶解，即8mg/mL 乙酰乙酸锂标准溶液，-20℃可以保存4周。临用前根据试验所需量用蒸馏水稀释成0.05mg/mL标准溶液待用，即标准溶液2；
6. BOH工作液配制：临用前根据试验所需量将试剂一A液、试剂二A液、试剂三按照850 μ L:40 μ L:10 μ L（共900 μ L，5T的量）的比例配成工作液，充分混匀，置于37℃保温15min（此步骤不可省略），现用现配，工作液在4h内用完；
7. AcAc工作液配制：临用前根据试验所需量将试剂一B液、试剂二B液、试剂三按照870 μ L:20 μ L:10 μ L（共900 μ L，5T的量）的比例配成工作液，充分混匀，置于37℃保温15min（此步骤不可省略），现用现配，工作液在4h内用完。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、低温离心机、可调式移液器、水浴锅/恒温培养箱、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

血清（浆）、尿液等液体样本：直接测定。（若有浑浊可以离心取上清后测定）。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，用蒸馏水调零。

2. BOH含量测定：

试剂名称（ μL ）	测定管	标准管	空白管
样本	20		
标准溶液1		20	
蒸馏水			20
BOH工作液	180	180	180

将上述溶液依次加入微量石英比色皿/96孔UV板中，充分混匀20s，记录340nm处20s时吸光值 $A_{\text{BOH样本}1}$ 、 $A_{\text{BOH标准}1}$ 、 $A_{\text{BOH空白}1}$ ，37℃水浴锅或者培养箱反应5min（酶标仪有控温功能的可以将温度调至37℃），反应后拿出迅速擦干测定5min20s时吸光值 $A_{\text{BOH样本}2}$ 、 $A_{\text{BOH标准}2}$ 、 $A_{\text{BOH空白}2}$ 。计算 $\Delta A_{\text{BOH样本}} = A_{\text{BOH样本}2} - A_{\text{BOH样本}1}$ ， $\Delta A_{\text{BOH标准}} = A_{\text{BOH标准}2} - A_{\text{BOH标准}1}$ ， $\Delta A_{\text{BOH空白}} = A_{\text{BOH空白}2} - A_{\text{BOH空白}1}$ 。
空白管和标准管只需做1-2次。

3. AcAc含量测定：

试剂名称（ μL ）	测定管	标准管	空白管
样本	20		
标准溶液2		20	
蒸馏水			20
AcAc工作液	180	180	180

将上述溶液依次加入微量石英比色皿/96孔UV板中，充分混匀20s，记录340nm处20s时吸光值 $A_{\text{AcAc样本}1}$ 、 $A_{\text{AcAc标准}1}$ 、 $A_{\text{AcAc空白}1}$ ，37℃水浴锅或者培养箱反应5min（酶标仪有控温功能的可以将温度调至37℃），反应后拿出迅速擦干测定5min20s时吸光值 $A_{\text{AcAc样本}2}$ 、 $A_{\text{AcAc标准}2}$ 、 $A_{\text{AcAc空白}2}$ 。计算 $\Delta A_{\text{AcAc样本}} = A_{\text{AcAc样本}1} - A_{\text{AcAc样本}2}$ ， $\Delta A_{\text{AcAc标准}} = A_{\text{AcAc标准}1} - A_{\text{AcAc标准}2}$ ， $\Delta A_{\text{AcAc空白}} = A_{\text{AcAc空白}1} - A_{\text{AcAc空白}2}$ 。
空白管和标准管只需做1-2次。

三、酮体含量计算

1. BOH计算公式

$$\text{BOH含量} (\mu\text{mol/mL}) = (\Delta A_{\text{BOH样本}} - \Delta A_{\text{BOH空白}}) \div (\Delta A_{\text{BOH标准}} - \Delta A_{\text{BOH空白}}) \times C_{\text{BOH}} \div 126.09 \times 1000$$

$$= 1.586 \times (\Delta A_{\text{BOH样本}} - \Delta A_{\text{BOH空白}}) \div (\Delta A_{\text{BOH标准}} - \Delta A_{\text{BOH空白}})$$

2. AcAc计算公式

$$\text{AcAc含量} (\mu\text{mol/mL}) = (\Delta A_{\text{AcAc样本}} - \Delta A_{\text{AcAc空白}}) \div (\Delta A_{\text{AcAc标准}} - \Delta A_{\text{AcAc空白}}) \times C_{\text{AcAc}} \div 108.02 \times 1000$$

$$= 0.463 \times (\Delta A_{\text{AcAc样本}} - \Delta A_{\text{AcAc空白}}) \div (\Delta A_{\text{AcAc标准}} - \Delta A_{\text{AcAc空白}})$$

3. 酮体计算公式

$$\text{酮体含量} (\mu\text{mol/mL}) = \text{BOH含量} + \text{AcAc含量}$$

C_{BOH} : BOH标准溶液1浓度, 0.2mg/mL; C_{AcAc} : AcAc标准溶液2浓度, 0.05mg/mL; 126.09: 3-羟基丁酸钠的分子量, 126.09mg/mmol; 108.02: 乙酰乙酸锂的分子量, 108.02mg/mmol; 1000: 单位换算系数, 1mmol= 1000 μmol 。

注意事项:

- 如果测定初始吸光值 >1.5 或 $\Delta A > 0.2$ ，建议将样本用蒸馏水稀释后再测定。计算公式中乘上稀释倍数；
- 如果 ΔA 接近空白值，建议加大样本量，同时保证反应体系总体积不变，相应减少工作液加样量后测定。例如，若增大样本量为40 μL ，则工作液调整为160 μL 。标准管与样本管加样体系应保持一致，计算公式不变。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com