

β-羟丁酸 (β-HB) 含量检测试剂盒 (WST 法) 说明书

微量法

货号: BC5085

规格: 100T/48S

产品内容: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 25mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂三	粉剂×2 支	-20℃保存
显色液	液体 1.5mL×1 支	-20℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

溶液的配制:

- 1、试剂二: 临用前取一支加入 600μL 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、试剂三: 临用前取一支加入 400μL 蒸馏水, 充分溶解。用不完的试剂分装后-20℃保存, 可以保存 2 周。避免反复冻融 (该试剂为冻干试剂, 可能存在不同瓶间肉眼观察试剂量相差较大甚至量很少的现象, 此现象不影响使用, 实际质量相同)。(试剂三由于不便保存, 故多给一支)
- 3、标准品: 3-羟基丁酸钠。临用前加入 980μL 蒸馏水, 充分溶解, 即 8mg/mL 3-羟基丁酸钠标准溶液。2-8℃保存 1 个月。
- 4、工作液配制: 临用前根据试验所需量将试剂一、试剂二、试剂三按照 170:8:2 (共 180μL, 1T 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。

产品说明:

β-羟丁酸 (β-HB), 在严重酸中毒患者体内, 由于酸中毒使患者体内 NADH 生成增加, 进而促使 β-羟丁酸与乙酰乙酸的比值自正常的 2:1 提高至 16:1。β-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。本试剂盒适用于血清、血浆、尿液等样本

在 pH8.8 和 37℃条件下, β-HB 在 β-羟丁酸脱氢酶 (HBDH) 催化下发生反应, 同时 NAD⁺被还原成 NADH; 在 1-mPMS 作用下, WST-1 可与 NADH 反应, 产生水溶性 formazan, 在 450nm 下有特征吸收峰。通过检测 450nm 下波长变化, 可计算出 β-HB 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。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、冰和蒸馏水。

操作步骤:





一、适用样本

血清、血浆、尿液等样本，直接检测即可，若溶液有浑浊可离心后进行测定

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、标准溶液配制：将 8mg/mL 3-羟基丁酸钠标准溶液，用蒸馏水稀释至 0.125、0.0625、0.03125、0.015625、0.0078125mg/mL 标准溶液待用。（注意不要在此步骤直接检测吸光值）
- 3、按下表步骤加样：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
样本	20	20	-	-
蒸馏水	-	-	20	-
标准溶液	-	-	-	20
工作液	180	-	180	180
试剂一	-	180	-	-
37°C条件下反应 10 min				
显色液	10	10	10	10

37°C条件下避光反应 20 min 后，取 200μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，于 450 nm 处测定吸光度。分别记为 A 测定、A 对照、A 空白、A 标准。 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。空白管只需做 1-2 次；标准曲线只需做 1-2 次。

三、β-HB 含量计算

- 1、标准曲线绘制：以 β-HB 标准溶液浓度为横坐标 (x, mg/mL)，以 ΔA 标准为纵坐标 (y) 绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入方程求得 x (mg/mL)。

2、计算公式

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\beta\text{-HB 含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 126.09 \times 1000 = 7.931x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按照血清 (浆) 体积计算

$$\beta\text{-HB 含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div 126.09 \times 1000 = 7.931x$$

V 样：反应中加入样本体积，20 μL=0.02 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；126.09：β-羟基丁酸钠的分子量，mg/mmol；1000：1mmol=1000μmol。

注意事项：

- 1、显色完成后，请在 10 min 之内完成检测。
- 2、如果 ΔA 测定低于或超过标准曲线吸光值范围，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

实验实例：

1. 取 20μL 牛血清按上述步骤进行实验，用 96 孔板测定后进行计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.455-0.082=0.373，带入标准曲线 $y=0.4913x+0.0043$ ，得 $x=0.750$ 。计算 $\beta\text{-HB 含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = 7.931x=5.948 \mu\text{mol}/\text{mL}$

相关发表文献：



- [1] Gao X, Jian L, Zhang L, Xu Y, Zhao Y, Yang Y, Yuan Y, Wang Y, Xu S, Ren B, Li Z, Wang C, Li J, Gu Y, Ye J. Perilipin 5 protects the mitochondrial oxidative functions and improves the alcoholic liver injury in mice. *Liver Int.* 2024 Feb;44(2):357-369. doi: 10.1111/liv.15775. Epub 2023 Nov 6. PMID: 37933091.
- [2] Zhao Y, Zhao H, Li L, Tan J, Wang Y, Liu M, Jiang L. Multi-omics analysis reveals that the metabolite profile of raw milk is associated with dairy cows' health status. *Food Chem.* 2023 Dec 1; 428:136813. doi: 10.1016/j.foodchem.2023.136813. Epub 2023 Jul 4. PMID: 37421666.
- [3] Luo Z, Li M, Yang Q, Zhang Y, Liu F, Gong L, Han L, Wang M. Ferulic Acid Prevents Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Promoting Fatty Acid Oxidation and Energy Expenditure in C57BL/6 Mice Fed a High-Fat Diet. *Nutrients.* 2022 Jun 18;14(12):2530. doi: 10.3390/nu14122530. PMID: 35745260; PMCID: PMC9230086.

相关系列产品:

- BC0710/BC0715 α -酮戊二酸脱氢酶 (α -KGDH) 活性检测试剂盒
- BC2150/BC2155 柠檬酸 (CA) 含量检测试剂盒
- BC0950/BC0955 琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测试剂盒
- BC0380/BC0385 丙酮酸脱氢酶 (PDH) 活性检测试剂盒

