



## 白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚绿显色法)

中文名称：**白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚绿显色法)**

英文名称：Albumin Content Assay Kit (Bromocresol Green Colorimetry)

产品包装：盒装

产品规格：100T/96S

储存条件：-20℃

检测方法：微量法

有效期：6个月

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 0.28mL×1 支	2-8℃保存
试剂二	液体 25mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 0.3mL×1 支	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	-20℃保存

溶液的配制：

1、显色液：临用前根据样本数量按照试剂一：试剂二：试剂三=10μL: 990μL:10μL(1010 μL , 5T)的比例配 制显色液，充分混匀，现配现用；

2、标准品：10mg/mL 白蛋白标准液。临用前取 200μL10mg/mL 白蛋白标准液,加入 200 μL 提取液，配制成 5mg/mL 白蛋白标准液，现配现用。

产品说明：

白蛋白是人体血浆中最主要的蛋白质，由肝脏合成，是人体内一种重要的营养物质，可以

维持血浆渗透压，并可与多种营养物质、激素和药物相结合。白蛋白含量可以反映机体营养状态，也可排查影响肝脏代谢功能的疾病，如肝硬化、肝损伤、营养不良、恶性肿瘤等。血清白蛋白在 pH4.2 的缓冲液中带正电荷，在有非离子型表面活性剂存在时，可与带负电荷的染料溴甲酚绿结合形成蓝绿色复合物，在波长 630nm 处有吸收峰，其颜色深浅与白蛋白浓度成正比例。



**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、分析天平、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

#### **操作步骤：**

##### **一、样本处理**

1. 组织样本：按质量(g)：提取液体积(mL)为 1 : 5~10 的比例加入提取液(建议称取 0.1g 样本，加入 1.0mL 提取液)，冰浴匀浆后，于 4℃，8000g，离心 10min，弃沉淀，取上清液置于冰上待测。

2. 细菌/细胞样本：按细菌/细胞数量( $10^6$ )：提取液体积(mL)为 5~10 : 1 的比例加入提取液(建议 5 百万细菌/细胞加入 1.0mL 提取液)，冰浴超声破碎细菌/细胞(功率 200W，超声 3s，间隔 7s，总时间 5min)，然后于 4℃，8000g，离心 10min，弃沉淀，取上清液置于冰上待测。



3. 液体样本：直接测定。若液体有浑浊则离心取上清测定。

## 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 630nm,可见分光光度计蒸馏水调零。

2. 操作表：(微量玻璃比色皿/96 孔板中加入下列试剂)

试剂名称(μL)	测定管	标准管	空白管
样本	20	-	-
标准品	-	20	-
提取液	-	-	20
显色液	200	200	200

混匀，常温静置 20s，于 630nm 处测定各管吸光值，分别记为 A 测定、A 标准和 A 空白，计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 空白， $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白。空白管和标准管只需测 1-2 次。

注意：静置时间长短会影响检测结果，建议直接在微量玻璃比色皿/96 孔板中直接反应 20s，测定吸光值

## 三、白蛋白含量计算

### 1. 按样本蛋白浓度计算

白蛋白含量(mg/mg prot)=  $\Delta A$  测定  $\times$  (C 标  $\div$   $\Delta A$  标准)  $\times V$  样  $\div$  (V 样  $\times C_{pr}$ ) =  $5 \times \Delta A$  测定  $\div$   $\Delta A$  标准  $\div C_{pr}$

### 2. 按样本质量计算

白蛋白含量(mg/g 质量)=  $\Delta A$  测定  $\times$  (C 标  $\div$   $\Delta A$  标准)  $\times V$  样  $\div$  (W  $\times V$  样  $\div V$  样总) =  $5 \times \Delta A$  测定  $\div \Delta A$  标准  $\div W$

### 3. 按细菌/细胞数量计算

白蛋白含量(mg/ $10^6$  cell)=  $\Delta A$  测定  $\times$  (C 标  $\div$   $\Delta A$  标准)  $\times V$  样  $\div$  (V 样  $\times N \div V$  样总) =  $5 \times \Delta A$  测定  $\div \Delta A$  标准  $\div N$

### 4. 按液体体积计算



白蛋白含量(mg/mL)=  $\Delta A$  测定 $\times$ (C 标 $\div$  $\Delta A$  标准) $\times V$  样 $\div V$  样=  $5 \times \Delta A$  测定 $\div \Delta A$  标准

C 标: 标准管浓度,5 mg/mL; V 样: 加入样本体积, 0.02mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度,mg/mL; W: 样本质量,g; N: 细菌/细胞总数, 以  $10^6$ 计。

**注意事项:**

1、如果 $\Delta A$  测定小于 0.010 或测定管吸光值接近空白管, 可以增加样本量后再进行测定; 如果 $\Delta A$  测定大于 0.5,建议将样本上清用提取液适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。

2、如果样本加入显色剂后出现浑浊, 建议将样本上清用提取液适当稀释后再进行测定。

注意同步修改计算公式。

**实验实例:**

1. 取 20 $\mu$ L 人血清样本, 用提取液稀释 10 倍, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算:

$\Delta A$  测定=A 测定-空白=0.426-0.124=0.302, $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白=0.406-0.124=0.282,

按液体体积计算得:

白蛋白含量(mg/mL)= $5 \times \Delta A$  测定 $\div \Delta A$  标准 $\times 10$ (稀释倍数)=53.546 mg/mL。