



## 白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚紫显色法)(微量法)

中文名称：**白蛋白含量检测试剂盒(溴甲酚紫显色法)**

英文名称：Albumin Content Assay Kit (Bromocresol Purple 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 0.12mL×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	液体 1mL×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: 3990μL :40μL (4040 μL, 20T) 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 50μL10mg/mL 白蛋白标准液， 加入 150μL 提取液， 配制成 2.5mg/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。在酸性环境下,白蛋白分子带正电荷,与带负电荷的溴甲酚紫(Bromocresol Purple, BCP)结合生成绿色复合物,在603nm处有特定吸收峰,该复合物吸光值与白蛋白浓度成正比。



**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) 1:5~10 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<sup>6</sup>): 提取液体积 (mL) 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 603nm,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 1min，于 603nm 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 1min，测定吸光值

## 三、白蛋白含量计算

### 1. 按样本蛋白浓度计算

$$\text{白蛋白含量(mg/mg prot)} = \Delta A \text{ 测定} \times (C \text{ 标} \div \Delta A \text{ 标准}) \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \times Cpr) = 2.5 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div Cpr$$

### 2. 按样本质量计算

$$\text{白蛋白含量 (mg/g 质量)} = \Delta A \text{ 测定} \times (C \text{ 标} \div \Delta A \text{ 标准}) \times V \text{ 样} \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) = 2.5 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

### 3. 按细菌/细胞数量计算

$$\text{白蛋白含量 (mg/10}^4\text{cell)} = \Delta A \text{ 测定} \times (C \text{ 标} \div \Delta A \text{ 标准}) \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \times N \div V \text{ 样总}) = 2.5 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div N$$

### 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=  $2.5 \times \Delta A$  测定 $\div \Delta A$  标准

C 标: 标准管浓度,2.5mg/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 0.005 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 0.4， 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=0.371-0.117=0.254, $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白=0.28-0.117=0.163,

按液体体积计算得：

白蛋白含量 (mg/mL) = $2.5 \times \Delta A$  测定 $\div \Delta A$  标准 $\times 10$  =38.957 mg/mL。