



## 酶比色法 测试人血清中的 胆固醇含量

### 前言

临床化学使用化学过程测量血液中化学成分的含量。这对于疾病的早期诊断以及器官功能的监测是非常有用的。最常见的用于临床化学的试样是血液和尿液。表1提供了使用UV/Vis分光光度计

进行的最常见的血液检测和可测试的项目。在这篇应用文献中, 将介绍使用LAMBDA™ 465 UV/Vis分光光度计和UV Lab™ 软件, 通过酶催化方法测试人血清中胆固醇的水平。

### 原理

样品中的胆固醇酯可用胆固醇酯酶进行水解。然后通过胆固醇氧化酶氧化游离的胆固醇形成4-胆甾烯-3-酮和过氧化氢。过氧化氢和4-氨基-安替比林在苯酚和过氧化物酶的存在下会生成可测定的红色醌亚胺染料衍生物, 该物质在500nm处有吸收。

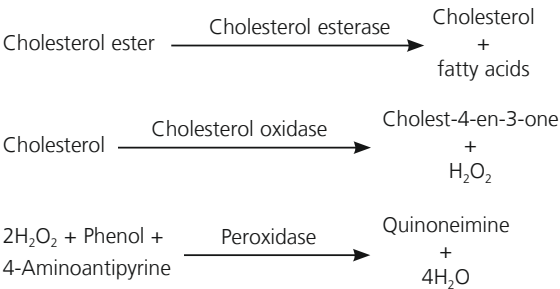
血清中胆固醇含量可通过方程1进行计算。(正常范围: 130-250 mg/dl)

Equation 1

Cholesterol Level (mg/dl) =  $\frac{\text{Absorbance of Sample}}{\text{Absorbance of Standard}} \times 300 \dots (1)$

反应原理示意图如方程2所示。

Equation 2



试剂和仪器

- 1. 胆固醇缓冲溶液 (胆固醇试剂盒, 100ml) - 苯酚132mg, 磷酸二氢钠 0.78g, 磷酸氢二钠 0.71g
- 2. 酶试剂 (胆固醇试剂盒, 100ml稀释剂) - 胆固醇氧化酶 12单元, 胆固醇酯酶 3.5单元, 过氧化物酶6700单元, 4-氨基安替比林17mg/dl
- 3. 胆固醇标准溶液 (胆固醇试剂盒) -300mg/dl
- 4. 人血清样品
- 5. 蒸馏水
- 6. 水浴
- 7. LAMBDA 465 (UV/Vis 分光光度计)
- 8. UV Lab软件
- 9. 比色皿 (10mm光程)

操作步骤

- 1. 将酶试剂溶解到100ml胆固醇缓冲溶液中制备酶溶液。
- 2. 按照表2制备混合溶液。
- 3. 将试样放入37℃的水浴5min。
- 4. 测试空白溶液。
- 5. 测试标准溶液。
- 6. 测试样品溶液。(测试应在1h内完成)

表1. 常规血液检测及使用UV/Vis分光光度计可测试项目

Common Blood Tests	Tests using UV-Vis Spectrophotometer
WBC, RBC, Hb, HCT, MCV, MCH, MCHC, Platelet, GOT, SGPT, ALP, γ-GTP, Total protein, Albumin, Total bilirubin, BUN, Creatinine, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, LDH, CPK, Amylase, Glucose, VDRL, anti-HIV, HBs Ag, HBs Ab, Fe, P, Ca, Mg	Hb, SGOT, SGPT, ALP, γ-GTP, Total protein, Albumin, Total bilirubin, Creatinine, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, LDH, Amylase, Glucose, Fe, P, Ca, Mg

表2. 待测试混合溶液制备

	Blank	Standard	Sample
Enzyme sol.	3	3	3
D.I Water	0.02		
Cholesterol std.		0.02	
Serum Sample			0.02

仪器参数

LAMBDA 465仪器参数设置如下所示。实验方法如图1所示。

实验设置

Data type: Absorbance  
Sampling: Single cell  
Mode: Scan no. : 30; Integration no. : 1

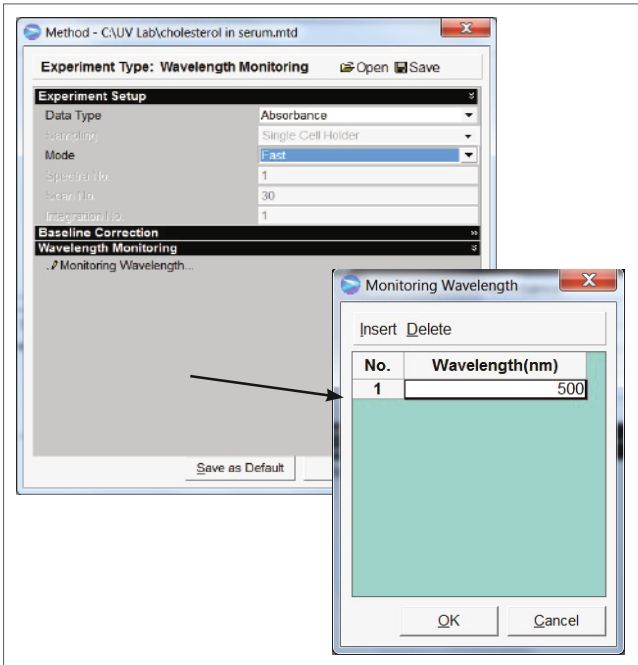


图1. 实验方法

胆固醇吸收光谱如图2所示。吸收值及人血清样品胆固醇含量如表3所示。使用方程1计算得到血清中胆固醇含量为253.84mg/dl。

表3. 人血清中胆固醇含量

Name	AU(500nm)	Concentration(mg/dl)
Standard	0.2775	300
Serum Sample	0.2348	253.84

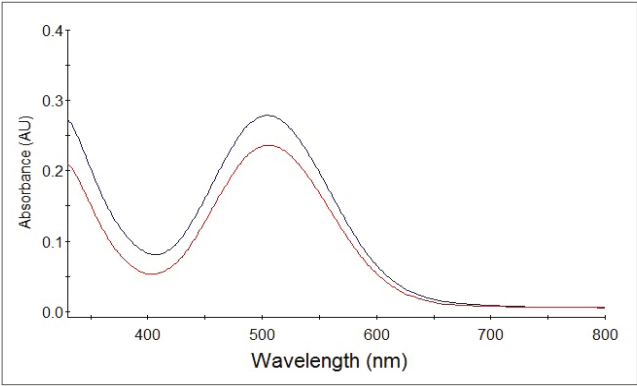


图2. 酶比色法测定胆固醇吸收光谱

结论

使用LAMBDA™ 465 UV/Vis分光光度计和UV Lab™软件，通过酶催化比色法可以测试人血清中胆固醇的含量。反应结束后，样品测试时间需要最小化，使用LAMBDA 465能够快速收集从190-1100nm全波段范围内的数据。通过强大且易于使用的软件可有效地进行数据处理。通过方程1计算得到胆固醇的含量略高于正常的预期范围 (130-250mg/dl)。

珀金埃尔默企业管理（上海）有限公司  
地址：上海 张江高科技园区 张衡路1670号  
邮编：201203  
电话：021-60645888  
传真：021-60645999  
[www.perkinelmer.com.cn](http://www.perkinelmer.com.cn)



要获取全球办事处的完整列表，请访问[http:// www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs](http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs)

版权所有 ©2014, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。