

## 血清铁浓度检测试剂盒（分光光度法）

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

### 测定意义：

血清铁是指血液中转铁蛋白所结合的铁，该指标常用于鉴别缺铁性与非缺铁性贫血。

### 测定原理：

亚硫酸钠还原血清  $Fe^{3+}$  生成  $Fe^{2+}$ ， $Fe^{2+}$  进一步与 2,2'- 联吡啶显色，在 520nm 处有吸收峰，测定该波长光吸收值即可计算血清铁含量。

### 试剂组成和配制：

试剂一：粉剂×1 瓶，4℃ 保存。临用前配制，加入 20 mL 蒸馏水充分溶解。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃ 保存。临用前配制，加入 625 $\mu$ L 冰醋酸，加入 20 mL 蒸馏水充分溶解。

标准液：液体 1mL×1 支（EP 管），10  $\mu$ mol/L  $Fe^{3+}$  标准液，4℃ 保存。

### 测定步骤：

1. 分光光度计预热 30 min，调节波长到 520 nm，蒸馏水调零。
2. **标准液解冻**：提前取出标准液，置于室温下充分解冻后混匀。
3. **空白管**：取 EP 管，依次加入 **400  $\mu$ L 蒸馏水**，400  $\mu$ L 试剂一，400  $\mu$ L 试剂二，混匀后盖紧，置于沸水浴 5min，自来水冷却。加入 200  $\mu$ L **氯仿**（自备），充分震荡混匀；室温 10000rpm，离心 10min，小心吸取**上层液** 700  $\mu$ L，加入 1mL 玻璃比色皿，于 520 nm 测定吸光度，记为 A 空白管。
4. **标准管**：取 EP 管，依次加入 **400  $\mu$ L 标准液**，400  $\mu$ L 试剂一，400  $\mu$ L 试剂二，混匀后盖紧，置于沸水浴 5min，自来水冷却。加入 200  $\mu$ L 氯仿，充分震荡混匀；室温 10000rpm，离心 10min，小心吸取**上层液** 700  $\mu$ L，加入 1mL 玻璃比色皿，于 520 nm 测定吸光度，记为 A 标准管。
5. **测定管**：取 EP 管，依次加入 **400  $\mu$ L 血清**，400  $\mu$ L 试剂一，400  $\mu$ L 试剂二，混匀后盖紧，置于沸水浴 5min，自来水冷却。加入 200  $\mu$ L 氯仿，充分震荡混匀；室温 10000rpm，离心 10min，小心吸取**上层液** 700  $\mu$ L，加入 1mL 玻璃比色皿，于 520 nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

**注意：空白管和标准管只需测定一次。**

## 血清铁浓度计算公式：

$$\begin{aligned} \text{血清铁含量}(\mu\text{mol}/\text{dL}) &= [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \\ &= (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \end{aligned}$$

C 标准液：10  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Fe}^{3+}$ 标准液；

V 总：标准液总体积 1mL；

1 dL=0.1 L。

## 注意事项：

- 1、血清铁含量少，所用器皿（EP 管）需要注意，避免被铁污染。
- 2、试剂一和试剂二溶液不稳定，需现配现用，新配制的试剂当天使用完毕。
3. 最低检出限为  $1\mu\text{mol/L}$ 。