

血清铁浓度检测试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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。

自备仪器和用品：

离心机、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、冰醋酸、氯仿和蒸馏水。

试剂组成和配置：

试剂一：粉剂×1瓶，4°C保存。临用前配制，加入15mL蒸馏水充分溶解。

试剂二：粉剂×1瓶，4°C保存。临用前配制，加入469μL冰醋酸，加入15mL蒸馏水充分溶解。

标准液：液体1mL×1支（EP管），100 μmol/L Fe^{3+} 标准液，4°C保存。

测定：

1. 分光光度计/酶标仪预热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125 μL蒸馏水，125 μL试剂一，125 μL试剂二，混匀后盖紧，置于沸水浴5min，自来水冷却。加入62 μL氯仿（自备），充分震荡混匀；室温10000rpm，离心10min，小心吸取上层液210 μL，加入微量石英比色皿/96孔板，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125 μL标准液，125 μL试剂一，125 μL试剂二，混匀后盖紧，置于沸水浴5min，自来水冷却。加入62 μL氯仿，充分震荡混匀；室温10000rpm，离心10min，小心吸取上层液210 μL，加入微量石英比色皿/96孔板，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125 μL血清，125 μL试剂一，125 μL试剂二，混匀后盖紧，置于沸水浴5min，自来水冷却。加入62 μL氯仿，充分震荡混匀；室温10000rpm，离心10min，小心吸取上层液210 μL，加入微量石英比色皿/96孔板，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：

$$\begin{aligned}\text{血清铁含量}(\mu\text{mol/dL}) &= [C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})] \times V_{\text{总}} \\ &= 10 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})\end{aligned}$$

C 标准液：100 μmol/L 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，新配制的试剂只能当天使用。
3. 最低检出限为1 μmol/L。