

## 血红蛋白（Hb）含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC5585

规格：100T/96S

**产品组成：**使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
工作液	液体 25mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

1. 标准品：临用前加入1mL蒸馏水充分溶解，即为10mg/mL血红蛋白标准品，2-8℃可保存4周。
2. 0.625mg/mL标准品配制：取50 $\mu$ L 10mg/mL血红蛋白标准品，加入750 $\mu$ L蒸馏水，充分混匀，配制成0.625mg/mL的血红蛋白标准品使用，现配现用。

产品说明：

血红蛋白（Hemoglobin, Hb）是一种含有血红素的辅助因子蛋白，在输送和储存氧气方面有重要作用。血红蛋白分子由四个多肽链蛋白组成，两条 $\alpha$ 链和两条 $\beta$ 链，每条链有一个包含一个铁原子的环状血红素，氧气结合在铁原子上，被血液运输。

使用改进的羟碱法测定血红蛋白含量，血红蛋白与工作液生成有色物质，在400nm处有特征吸收峰，颜色深浅在一定范围内与血红蛋白含量成正比。

**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、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

全血/溶血液/血浆/血清：直接测定。血清、血浆若有浑浊请离心后取上清置于冰上待测。

### 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400nm，分光光度计用蒸馏水调零。

2、操作表：（在1.5mLEP管中依次加入以下试剂）

试剂名称（ $\mu$ L）	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	50	-	-
样本	-	50	-
标准品	-	-	50
工作液	200	200	200

充分混匀，常温静置5min，取200 $\mu$ L反应液于微量玻璃比色皿/96孔板中，测定400nm处吸光值A，记为A空白、A测定、A标准，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。

### 三、血红蛋白（Hb）含量的计算

血红蛋白含量（mg/mL）= $\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times F = 0.625 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$

C标准：标准品的浓度，0.625 mg/mL；F：稀释倍数。

#### 注意事项：

1. 如果样本测定吸光值大于 1.5，建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定。
2. 如果样本测定吸光值小于 0.01 或接近空白管吸光值，可适当增大样本量，空白管和标准管也需要进行相应调整。

#### 实验实例：

1. 取人血清 50 $\mu$ L，按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算  $\Delta A_{\text{测定}} = 0.221 - 0.056 = 0.165$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = 0.298 - 0.056 = 0.242$ ，计算：

血红蛋白含量（mg/mL）= $0.625 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F = 0.426 \text{ mg/mL}$

2. 取小鼠全血用蒸馏水稀释 80 倍后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算  $\Delta A_{\text{测定}} = 0.985 - 0.056 = 0.929$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = 0.298 - 0.056 = 0.242$ ，计算：

血红蛋白含量（mg/mL）= $0.625 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F = 191.942 \text{ mg/mL}$

#### 相关系列产品：

BC1730/BC1735 血清铁浓度检测试剂盒

BC5410/BC5415 亚铁离子含量检测试剂盒

BC5590/BC5595 游离血红蛋白含量检测试剂盒

BC5600/BC5605 高铁血红蛋白含量检测试剂盒

BC5610/BC5615 糖化血红蛋白含量检测试剂盒