

血锌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：

锌是必需的微量元素之一，在胰岛素和卟啉代谢中也起重要作用。

测定原理：

在pH 8.5~9.5的溶液中，Zn²⁺与锌试剂生成蓝色配位化合物，在620nm有最大吸收峰。

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、蒸馏水和无水乙醇。

试剂组成和配制：

试剂一：液体20mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体15mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前1天配制，加入15mL无水乙醇充分溶解，盖紧，过夜待用。4℃保存可稳定约1个月，如颜色变黄，则已失效。

标准液：液体×1支，10 μmol/L Zn²⁺标准液。4℃保存。

测定操作：

1. 分光光度计/酶标仪预热30 min，调节波长到620 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1.5 mL EP管，依次加入100 μL蒸馏水，100μL试剂一，混匀；室温，13000g，离心10min，小心吸取上清液100 μL，加入0.5 mL EP管，加入100μL试剂二，100μL试剂三，充分混匀后13000g离心取上清，吸取200μL于微量石英比色皿/96孔板，620 nm测定吸光度，记为A空白管。
4. **标准管：**取1.5 mL EP管，依次加入100 μL标准液，100 μL试剂一，混匀；室温，13000g，离心10min，小心吸取上清液100 μL，加入0.5 mL EP管，加入100μL试剂二，100μL试剂三，充分混匀后13000g离心取上清，吸取200μL于微量石英比色皿/96孔板，620 nm测定吸光度，记为A标准管。
5. **测定管：**取1.5 mL EP管，依次加入100 μL血清，200 μL试剂一，混匀；室温，8000g，离心10min，小心吸取上清液100 μL，加入0.5 mL EP管，加入100μL试剂二，100μL试剂三，充分混匀后13000g离心取上清，吸取200μL于微量石英比色皿/96孔板，620 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。

血锌浓度计算公式：

$$\begin{aligned} \text{血锌浓度} (\mu\text{mol/L}) &= C \text{标准液} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \\ &= 10 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \end{aligned}$$

C标准液：10 μmol/L Zn²⁺

注意事项：

1. 试剂三需提前一天配制，如变黄色则不能再使用。
2. 加入试剂三混匀后，要在30 min内完成该管测定。
3. 最低检出限为 $1\mu\text{ mol/L}$ 。

血锌浓度检测试剂盒配方（微量法 100T/96S）

试剂一：取20 mL试剂瓶，加入20mL甲醇。

试剂二：称0.2g氢氧化钠溶于50mL蒸馏水充分溶解后取21.4mL于50mL试剂瓶中，

取30mL试剂瓶，称0.32g硼酸、0.373g氯化钾溶于25mL蒸馏水，充分溶解后将其全部倒入上述21.4mL氢氧化钠溶液内混匀，取出15mL于15mL试剂瓶内，即为试剂二，其余的留着以后用。

试剂三：取10 mL棕色试剂瓶，加入12mg锌试剂

标准液：称取1 mg氧化锌（81.39MW），加 $10\ \mu\text{ L}$ 浓盐酸， $10\ \mu\text{ L}$ 蒸馏水，充分溶解；加12.267 mL蒸馏水，混匀；取EP管，加入 $10\ \mu\text{ L}$ 上述溶液，加入 $990\ \mu\text{ L}$ 蒸馏水，混匀，即 $10\ \mu\text{ mol/L Zn}^{2+}$ 标准液。