

血氨测试盒

(货号: BC116 无蛋白滤液法 50 管/48 样)

一、测定原理:

用蛋白沉淀剂沉淀血液蛋白并破坏酶活性,防止离体后产生游离氨,同时除去大部分干扰显色物质。用 Berthelot 反应使无蛋白滤液中氨显色,与标准液比较测定血液氨含量。

二、试剂组成与配制: (试剂盒有效期 6 个月)

试剂一: 蛋白沉淀剂 I, 60mL×1 瓶, 2~8℃ 保存。

试剂二: 蛋白沉淀剂 II, 60mL×1 瓶, 2~8℃ 保存。

试剂三: 显色剂 I, 60mL×1 瓶, 2~8℃ 保存。

试剂四: 显色剂 II, 60mL×1 瓶, 2~8℃ 保存。

试剂五: 7mmol/L 标准贮备液 1mL×1 支, 2~8℃ 保存。

试剂六: 标准品稀释液 20mL×1 瓶, 2~8℃ 保存。

350μmol/L 标准应用液配制: 按 7mmol/L 标准贮备液: 标准品稀释液 = 1: 19 的比例稀释配成。

三、所需仪器及试剂:

分光光度计及 1cm 光径比色皿 (或酶标仪 (630nm) 及 96 孔板), 涡旋混匀器, 离心机。

四、操作表:

	空白管	标准管	测定管
待测样本 (mL)			0.2
350μmol/L 标准应用液 (mL)		0.2	
标准品稀释液 (mL)	0.2		
试剂一 (mL)	1	1	1
试剂二 (mL)	1	1	1
充分混匀, 3500 转/分离心 10 分钟, 取上清显色			
上清 (mL)	1	1	1
试剂三 (mL)	1	1	1
试剂四 (mL)	1	1	1
充分混匀, 37℃ 水浴 20 分钟, 630nm, 蒸馏水调零, 1cm 光径, 分光光度计测定各管吸光度值 A (或是每管吸取 200μL 反应液加到 96 孔板中, 酶标仪 630nm 处读数)。			

五、计算公式:

$$\text{血氨含量} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{L}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times N$$

$C_{\text{标准}}$: 标准液浓度, 350μmol/L;

N : 样本测试前稀释倍数。

六、计算举例:

取人的新鲜抗凝血清 0.2mL 按操作表操作, 测得空白管 OD 值是 0.155, 标准管 OD 是 0.338, 测定管 OD 是 0.214, 按照公式计算得:

$$\begin{aligned} \text{血氨含量} (\mu\text{mol/L}) &= \frac{0.214 - 0.155}{0.338 - 0.155} \times 350 \times 1 \\ &= 112.842\mu\text{mol/L} \end{aligned}$$

七、注意事项：

- 1、蛋白沉淀剂 I、II 不可以混合后应用；显色剂 I、II 不可以混合后应用。
- 2、如果您的样本量少，可以按比例减少试剂用量。
- 3、加沉淀剂后不能长时间放置，在 2 小时内一定要取上清显色，上清随着时间延长会逐渐呈现淡黄色雾状，不需要其他处理，加入显色剂就会澄清。
- 4、本法也可测定尿液，尿液氨含量相对高些，需要做预试（控制在 500 $\mu\text{mol/L}$ 左右）以确定最佳浓度。

八、测定意义：

血循环中的氨仅有 10.7-35.7 $\mu\text{mol/L}$ (15-50 $\mu\text{g/dL}$ 以氮计标),氨主要来自肠道及细菌酶的氨基酸脱氨反应。骨骼肌运动时的代谢也产生少量氨。正常情况下氨在肝脏转变成尿素。严重肝脏疾病,肝实质细胞功能受损害,氨不能从循环中清除,引起血氨浓度升高。

高血氨有神经毒性。往往伴随肝性脑病(肝昏迷)。同时高血氨引起 α -酮戊二酸的消耗。影响脑脊液的柠檬酸循环,并改变神经介质的功能。

九、实验相关性能指标：

项目序号	指标名称	指标要求
1	试剂盒检出限	7.2 $\mu\text{mol/L}$
2	试剂盒批内 CV	2.39%
3	试剂盒批间 CV	3.08%
4	试剂盒回收率	100.5%
5	线性范围 0 ~ 1000 $\mu\text{mol/L}$	$R^2=0.996$

附录：标准曲线

1、操作表：

	1	2	3	4	5	6	7	8
无氨水 (mL)	0.2	0.19	0.18	0.16	0.12	0.1	0.04	0
1mmol/L 标准应用 (mL)	0	0.01	0.02	0.04	0.08	0.1	0.16	0.2
蛋白沉淀剂 I (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1
蛋白沉淀剂 II (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1
充分混匀，室温静置 10 分钟，取混合液 1mL 显色								
混合液 (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1
显色剂 I (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1
显色剂 II (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1
充分混匀，37°C水浴 20 分钟，630nm，水调零，1cm 光径，测定各管吸光度值								

2、测定结果：

标准浓度 (mmol/L)	测定 OD 值	绝对 OD 值
0	0.132	0
0.05	0.161	0.029
0.1	0.192	0.06
0.2	0.238	0.106
0.4	0.36	0.228
0.5	0.405	0.273
0.8	0.57	0.438
1.00	0.679	0.547

3、绘图如下：

