- ⑤原卟啉标准液。
- a. 原卟啉标准贮备液(50 mg/L): 称取 5 mg 原卟啉,加 4 ml 无水乙醇使之溶解,以 1.5 N HCl 稀释至 100 ml。
- b. 原卟啉标准中间液(1.0 mg/L): 取 2 ml 原卟啉贮备液,以乙酸乙酯与乙酸(4:1)混合液稀释到 100 ml。
- c. 原卟啉标准应用液(0.1 mg/L):取 1 ml 原卟啉中间液,以乙酸乙酯与乙酸(4:1)混合液稀释到  $10 \text{ ml}_{\circ}$

## (4) 实验步骤: (表4)

试 剂 样品管 空白管 标准管 肝素 ( ml ) 0.10 0.10 0.10 全血 (ml) 0.02 水 (ml) 0.02 0.02 5%硅藻土悬浊液 (ml) 0.15 0.15 0.15 原卟啉标准应用液 (ml) 0.5 乙酸乙酯与乙酸(4:1)混合液(ml) 4 4 3.5

表 4 红细胞内游离原卟啉测定实验步骤

注:按上表依次加入各种试剂,在加入乙酸乙酯与乙酸混合液前,用混炭器混合已加入的混合液,然后边混合边加入乙酸乙酯与乙酸混合液。

离心 15 min,将各管上清液分别倒入 10 ml 比色管中,每管加 4 ml 0.5N 盐酸,振摇 5 min 静止使之分层,将上层溶剂抽出弃去,测定盐酸液的荧光强度(30 min 内比色)。

## (5) 荧光测量:

- ①若使用日立 MPF-4 型荧光分光光度计测定条件为激发波长为 403 nm, 狭缝 10 nm; 发射 波长为 605 nm, 狭缝为 5 nm, 液槽为 1 cm 厚石英槽。
- ②若使用国产 930 型荧光光度计测试,条件为激发滤光片 420,荧光滤片 550,灵敏度  $1\times500$ ,满度开关开至最大,液槽为 1 cm 厚石英槽,检出灵敏度为 0.01 g/4 ml。在不同量原卟啉(0 g, 0.01 g, 0.03 g, 0.05 g, 0.07 g, 0.1 g) 呈线性关系。

## (6) 计算: