

亚铁离子含量检测试剂盒（微量法）

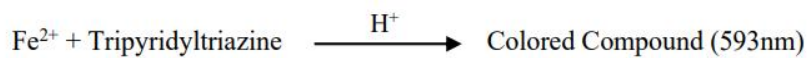
产品货号：BA2248

产品规格：100T/96S

产品说明：

铁是人体必需的微量元素之一，对于维持机体正常生理功能具有重要作用。亚铁离子是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及其他酶系统的重要组成成分，帮助氧的运输，促进脂肪氧化。缺乏铁元素容易造成贫血、代谢紊乱，并影响机体的免疫功能。铁过量是引发或加剧多种慢性病（如糖尿病、心脑血管疾病、神经退行性疾病等）的危险因素。

Fe^{2+} 在酸性条件下与三吡啶基三嗪形成蓝色配合物，在593nm处有吸收峰，通过测定该波长吸光度即可计算 Fe^{2+} 的含量。



产品组成：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 提取液 | 液体110mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一 | 液体13mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 标准品 | 粉剂×1支 | 2-8℃ |

溶液的配制：

- 标准品：10mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ，临用前加入900 μ L蒸馏水和20 μ L浓硫酸，充分混匀，配制成40mmol/L（40000 μ mol/L）标准品，2-8℃可保存2周。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、天平、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、可调式移液枪、冰、蒸馏水、浓硫酸（>95%，AR）和氯仿（>98%，AR）。

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）

- 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆。10000g，4℃离心10min，取上清置冰上待测。
- 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（ 10^7 个）：提取液体积（mL）为1~5：1的比例（建议 2×10^7 个细菌/细胞加入1mL提取液（或者 10^7 个细菌/细胞加入0.5mL提取液）），冰浴超声波破碎细菌/细胞（功率200W，超声5秒，间隔5秒，总时间5min）；然后10000g，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。
- 血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

二、测定步骤

- 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至593nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 标准品的稀释：将40mmol/L（40000 μ mol/L）标准品用蒸馏水进行稀释得到100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0.78125 μ mol/L的标准品，现配现用。
- 标准品稀释可参考下表：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

| 序号 | 稀释前浓度 (μmol/L) | 标准品体积 (μL) | 蒸馏水体积 (μL) | 稀释后浓度 (μmol/L) |
|----|----------------|------------|------------|----------------|
| 1 | 40000 | 10 | 990 | 400 |
| 2 | 400 | 200 | 800 | 100 |
| 3 | 100 | 500 | 500 | 50 |
| 4 | 50 | 500 | 500 | 25 |
| 5 | 25 | 500 | 500 | 12.5 |
| 6 | 12.5 | 500 | 500 | 6.25 |
| 7 | 6.25 | 500 | 500 | 3.125 |
| 8 | 3.125 | 500 | 500 | 1.5625 |
| 9 | 1.5625 | 500 | 500 | 0.78125 |

备注：下述实验中每个标准管需200μL标准品（注意不要在此步骤直接检测吸光度）。

4. 在1.5mL离心管中按下表步骤加样：

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 标准管 | 空白管 |
|--|-----|---|-----|
| 样本 | 200 | - | - |
| 标准品 | - | 200 | - |
| 蒸馏水 | - | - | 200 |
| 试剂一 | 100 | 100 | 100 |
| 充分混匀，37℃静置10min | | | |
| 氯仿 | 100 | - | - |
| 充分涡旋震荡5min，之后12000g常温离心10min，小心吸取上层无机相200 μL于微量玻璃比色皿/96孔板，测定593nm处吸光值，记为A测定，计算 ΔA测定=A测定-A空白。 | | 于593nm处测定吸光值，记为A标准、A空白，计算 ΔA标准=A标准-A空白。空白管和标准曲线只需测1-2次。 | |

备注：细胞/细菌样本或者其他无色匀浆液无需加氯仿处理，37℃反应完成后直接测定即可。

三、亚铁离子含量计算

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, μmol/L) 和吸光度 ΔA标准 (y, ΔA标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA测定 (y, ΔA测定) 带入公式计算样本浓度 (x, μmol/L)。

2. 亚铁离子含量的计算：

(1) 按血清(浆)等液体体积计算：亚铁离子含量 (μmol/L) = x

(2) 按样本蛋白浓度计算：亚铁离子含量 (μmol/mg prot) = $x \times 10^{-3} \times V_{\text{提取}} \div (Cpr \times V_{\text{提取}}) = 0.001x \div Cpr$

(3) 按样本质量计算：亚铁离子含量 (μmol/g 质量) = $x \times 10^{-3} \times V_{\text{提取}} \div W = 0.001x \div W$

(4) 按细胞/细菌数量计算：亚铁离子含量 (μmol/10⁷ cell) = $x \times 10^{-3} \times V_{\text{提取}} \div N = 0.001x \div N$

Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL; V提取: 加入提取液的体积, 1mL; W: 样本质量, g; N: 细菌或细胞总数, 以10⁷计; 10⁻³: 单位换算系数, 1 μmol/L = 10⁻³ μmol/mL。

注意事项：

- 如果ΔA测定过低或测定管吸光值接近空白管，可以增加样本量后再进行测定；如果ΔA测定大于1，建议将样本用提取液适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。
- 由于氯仿会腐蚀96孔板，所以在吸取上层无机相时需要注意不要吸到下层氯仿相。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com