

## 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、神经退化性疾病等）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 $\mu$ L蒸馏水和20 $\mu$ L浓硫酸，充分混匀，配制成40mmol/L（40000 $\mu$ 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 $2 \times 10^7$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.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) =  $x \times 10^{-3} \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = 0.001x \div C_{\text{pr}}$

(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/10<sup>7</sup> 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10<sup>7</sup>计; 10<sup>-3</sup>: 单位换算系数, 1 μmol/L = 10<sup>-3</sup> 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

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com