

亚铁离子含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2247

产品规格：50T/48S

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。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体80mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 标准品：10mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ，临用前加入900 μL 蒸馏水和20 μL 浓硫酸，充分混匀，配制成40mmol/L（40000 $\mu\text{mol/L}$ ）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、天平、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、可调式移液枪、涡旋震荡仪、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）

1. 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。
2. 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率200W，超声3秒，间隔7秒，总时间5min）；然后10000g，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 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

1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至593nm，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：取10 μL 40mmol/L标准液，加入990 μL 蒸馏水，混匀得到400 $\mu\text{mol/L}$ 标准液，将400 $\mu\text{mol/L}$



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

标准液用提取液进行稀释得到100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625 $\mu\text{mol/L}$ 的标准液备用，注意标准溶液需要现用现配。

3. 标准品稀释可参考下表：

序号	稀释前浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	标准品体积 (μL)	提取液体积 (μL)	稀释后浓度 ($\mu\text{mol/L}$)
1	400	500	1500	100
2	100	1000	1000	50
3	50	1000	1000	25
4	25	1000	1000	12.5
5	12.5	1000	1000	6.25
6	6.25	1000	1000	3.125
7	3.125	1000	1000	1.5625

备注：下述实验中每个标准管需800 μL 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	800	-	-
标准液	-	800	-
提取液	-	-	800
试剂一	400	400	400
充分混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 静置10min			
氯仿	200	-	-
充分涡旋震荡5min，之后12000g常温离心10min，小心吸取上层无机相800 μL 于1mL玻璃比色皿，测定593nm处吸光值，记为A测定，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		于593nm处测定吸光值，记为A标准、A空白，计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管和标准曲线只需测1-2次。	

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 , $\mu\text{mol/L}$) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y , $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (y , $\Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度 (x , $\mu\text{mol/L}$)。

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 ($\mu\text{mol/L}$) = x
- (2) 按样本蛋白浓度计算：亚铁离子含量 ($\mu\text{mol/mg prot}$) = $x \times 10^{-3} \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = 0.001x \div C_{\text{pr}}$
- (3) 按样本质量计算：亚铁离子含量 ($\mu\text{mol/g 质量}$) = $x \times 10^{-3} \times V_{\text{提取}} \div W = 0.001x \div W$
- (4) 按细胞/细菌数量计算：亚铁离子含量 ($\mu\text{mol}/10^7 \text{ cell}$) = $x \times 10^{-3} \times V_{\text{提取}} \div N = 0.001x \div N$

C_{pr} : 蛋白质浓度, mg/mL; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液的体积, 1mL; W : 样本质量, g; N : 细菌或细胞总数, 以 10^6 计; 10^{-3} : 单位换算系数, $1 \mu\text{mol/L} = 10^{-3} \mu\text{mol/mL}$ 。

注意事项：

1. 用提取液稀释得到的标准液容易失效，建议现用现配。
2. 如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 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。



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