

亚铁含量检测试剂盒(亚铁嗉比色法)

(微板法 96 样)

产品简介:

亚铁即二价铁可与亚铁嗉生成紫红色化合物，该有色物质在 562nm 处有特征吸收峰，进而计算得出亚铁含量。适用于检测组织、血清等样品中的亚铁含量。

试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 26mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体×2 支	4℃保存	用前甩几下或离心使粉体落入底部，每支再加入 1.2mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃保存	
标准管	液体 1mL×1 支	4℃保存	临用前用试剂三稀释 50 倍(即取 10μL 的标准品至 EP 管中，再加 490μL 的试剂三)，制备成 2μg/mL 的亚铁标准品。

所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

亚铁含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实

验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。4°C×12000rpm 离心 5min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4) : 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 设定波长到 562nm。

② 所有试剂解冻至室温, 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	120		
标准品		120	
蒸馏水			120

试剂一	260	260	260
试剂二	20	20	20
充分混匀，置室温 15min 后，若浑浊则需 3000rpm 离心 5min 后，取 200 μ L 上清液至 96 孔板中，于波长 562nm 处读取各管吸光度 A。			

【注】：若 A 测定管大于 0.8，可用蒸馏水对样本上清液进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

结果计算:

1、按照组织质量计算:

$$\begin{aligned} \text{亚铁含量}(\mu\text{g/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{V1} \div \text{V} \times \text{W}) \times \text{D} \\ &= 2 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{亚铁含量}(\text{nmol/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{V1} \div \text{V} \times \text{W}) \times \\ &10^3 \div \text{Mr} \times \text{D} = 35.81 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

2、按细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{亚铁含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{V1} \div \text{V} \times \text{细胞} \\ &\text{数量}) \times \text{D} = 2 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{亚铁含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{V1} \div \text{V} \times \text{细} \\ &\text{胞数量}) \times 10^3 \div \text{Mr} \times \text{D} \\ &= 35.81 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{细胞数量} \times \text{D} \end{aligned}$$

3、按照液体体积计算:

$$\begin{aligned} \text{亚铁含量}(\mu\text{g/mL}) &= (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 2 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\text{亚铁含量}(\mu\text{mol/L}) = (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times 10^3 \div \text{Mr} \times \text{D}$$

$$=35.81 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

C 标准---亚铁标品浓度, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$; V1---加入样本体积, 0.06mL;

V---提取液体积, 1mL; W---样本取样质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1; Mr---亚铁分子量, 55.847。