



亚铁含量检测试剂盒（亚铁嗉比色法）

可见分光光度法

货号: R45113-48S

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。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×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	
标准品	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。

所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、 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℃×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℃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可见分光光度计预热30min, 设定波长到562nm, 蒸馏水调零。

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	240		
标准品		240	
蒸馏水			240
试剂一	520	520	520
试剂二	40	40	40
充分混匀, 置室温15min后, 若浑浊则需3000rpm离心5min后取全部上清液至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中, 于波长562nm处读取各管吸光度A。			

结果计算:

1、按照组织质量计算:

$$\text{亚铁含量}(\mu\text{g/g}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_2 \div V \times W) \times D \\ = 2 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

亚铁含量(nmol/g)

$$= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_2 \div V \times W) \times 10^3 \div M_r \times D$$



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

2、按细胞数量计算:

亚铁含量($\mu\text{g}/10^4\text{cell}$)

$$=(C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_2 \div V \times \text{细胞数量}) \times D$$

$$=2 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{细胞数量}$$

$$\text{亚铁含量}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_2 \div V \times \text{细胞数量}) \times 10^3 \div M_r \times D$$

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

3、按照液体体积计算:

$$\text{亚铁含量}(\mu\text{g}/\text{mL}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_2 \times D$$

$$=2 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

亚铁含量($\mu\text{mol}/\text{L}$)

$$=(C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_2 \times 10^3 \div M_r \times D$$

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

C 标准---亚铁标品浓度, $2\mu\text{g}/\text{mL}$;

V1--- 加入标准品体积, 0.24mL ;

V2---加入样本体积, 0.24mL ;

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;

M_r ---亚铁分子量, 55.847;

细胞数量---若取500万则把500代入公式计算。