



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

三价铁(Fe^{3+})含量检测试剂盒（亚铁嗉比色法）(微板法)

一、产品简介:

在酸性介质中铁从复合物中解离出来，其中三价铁被还原剂还原成二价铁，接着所有的二价铁与亚铁嗉反应生成紫红色化合物，该有色物质在562nm处有特征吸收峰，进而通过计算得出三价铁含量。

二、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100mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体26mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体26mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	粉体×4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。
试剂四	液体2mL×1支	4℃保存	
标准品	液体1mL×1支	4℃保存	临用前用试剂四稀释50倍(即取10 μ L的标准品至EP管中，再加490 μ L的试剂四)，制备成2 μ g/mL的铁标准品。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、三价铁(Fe^{3+})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（10⁴）：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	对照管	标准管 （仅做一次）	空白管 （仅做一次）
样本	120	120		
标准品			120	
蒸馏水				120
试剂一	260		260	260
试剂二		260		
试剂三	20	20	20	20
充分混匀，置室温15min后，若浑浊则需3000rpm离心5min后，取200μL上清液至96孔板中，于波长562nm处读取吸光度A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本都需做一个自身对照）。				



五、结果计算:

1、按照组织质量计算:

$$\text{三价铁}(\mu\text{g/g}) = (\text{C标准} \times V1) \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div (V1 \div V \times W) \times D$$

$$= 2 \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div W \times D$$

$$\text{三价铁}(\text{nmol/g}) = (\text{C标准} \times V1) \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div (V1 \div V \times W) \times 10^3 \div \text{Mr} \times D$$

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

2、按细胞数量计算:

$$\text{三价铁}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (\text{C标准} \times V1) \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div (V1 \div V \times \text{细胞数量}) \times D$$

$$= 2 \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{细胞数量} \times D$$

$$\text{三价铁}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) = (\text{C标准} \times V1) \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div (V1 \div V \times \text{细胞数量})$$

$$\times 10^3 \div \text{Mr} \times D$$

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

3、按照液体体积计算:

$$\text{三价铁}(\mu\text{g/mL}) = (\text{C标准} \times V1) \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div V1 \times D = 2 \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times D$$

$$\text{三价铁}(\mu\text{mol/L}) = (\text{C标准} \times V1) \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div V1 \times 10^3 \div \text{Mr} \times D$$

$$= 35.81 \times \Delta A \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times D$$

C标准---铁标品浓度, 2 $\mu\text{g/mL}$; V1---加入样本体积, 0.12mL;

V---提取液体积, 1mL; W---样本取样质量, g;

细胞数量---细胞数量, 若取500万则把500代入公式计算;

D---稀释倍数, 未稀释即为1; Mr---铁分子量, 55.847。

储存条件: 2-8 $^{\circ}\text{C}$, 6个月。