

铁含量（亚铁嗉比色法）检测试剂盒说明书

（货号：G1212W 微板法 96 样）

一、产品简介：

在酸性介质中铁从复合物中解离出来，再被还原剂还原成二价铁，并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，进而计算出铁含量。适用于检测组织、血清等样品中的铁含量。

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°C保存	
试剂一	液体 26mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉体×2 支	4°C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°C保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4°C保存	临用前用试剂三稀释 50 倍(即取 10 μ L 的标准品至 EP 管中，再加 490 μ L 的试剂三)，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、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 (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	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 200μL 上清液至 96 孔板中, 于波长 562nm 处读取吸光度 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。

五、结果计算:

1、按照组织质量计算:

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

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

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

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

2、按细胞数量计算:

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

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

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

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

3、按照液体体积计算:

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

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

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

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

C 标准---铁标品浓度, 2μg/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。