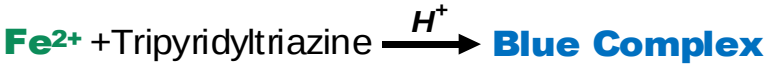
亚铁离子含量检测试剂盒

Ferrous Ion Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Catalog Number **AKIC004C**
Storage Temperature **2-8°C**
Size **70T/50S**

Visible Spectrophotometry

亚铁离子含量检测试剂盒

Ferrous Ion Content Assay Kit

一、产品描述

铁是人体必须的微量元素之一，也是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及其他酶系统的主要成分，在氧的运输和脂肪氧化过程中起着重要作用，铁元素缺乏易造成贫血、代谢紊乱并影响机体免疫功能。

Fe^{2+}在酸性条件下能够与三吡啶基三嗪形成蓝色配合物，产物在 593 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测 Fe^{2+}的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 80 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 （10 mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$）	4°C保存	**使用前加入 900 μL 蒸馏水和 20 μL 浓硫酸** （即为 40 μmol/mL $FeSO_4$ 标准液）
标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 40 μmol/mL $FeSO_4$ 标准液使用**试剂一**稀释至 0.1、0.08、0.04、0.02、0.01、0.005 μmol/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：浓硫酸（H_2SO_4，MM=98.08，CAS:7664-93-9）；氯仿（$CHCl_3$，MW=119.39，CAS:67-66-3）；

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	40	4.0	4.0	0.08	0.04	0.02	0.01
标准液体积（μL）	100	50	40	1000	1000	1000	1000
试剂一体积（μL）	900	1950	1960	1000	1000	1000	1000
稀释后浓度（μmol/mL）	4.0	0.1	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、浓硫酸、氯仿和蒸馏水。

1.样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10^4 个）：试剂一体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 1000 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 5 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 593 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
待测样本	800	-	-
标准稀释液	-	800	-
试剂一	-	-	800
试剂二	400	400	400
充分混匀，37℃显色 10 min			
氯仿	200	-	-
充分振荡混匀 5 min 12000 g 常温离心 10 min，**取上清液**			

吸光值测定：吸取 800 μL 上层溶液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 593 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算ΔA 测定=A 测定-A 空白，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次；测定管中加入氯仿会出现分层情况，小心吸取上层溶液检测即可。

标准曲线的建立：以 0.1、0.08、0.04、0.02、0.01、0.005 μmol/mL 为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将ΔA 测定带入公式中得到 x（μmol/mL）。

3.亚铁离子含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{亚铁离子含量（μmol/mg prot）} = \frac{x}{Cpr} = \frac{x}{Cpr}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{亚铁离子含量（μmol/g）} = \frac{x \times V_{样总}}{W} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{亚铁离子含量（μmol/}10^6\text{ cell）} = \frac{x \times V_{样总}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

④按液体样本体积计算

亚铁离子含量（μmol/mL）= x

注释：V 样总：待测样本总体积，1 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量，以 10^6 计。

四、注意事项

①若 A 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用**试剂一**适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio
Manufactured and Distributed by
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228
E-MAIL: techsupport@boxbio.cn
Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.