

亚铁离子螯合能力试剂盒说明书

(货号: BP10053F 分光法 48 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

亚铁离子 (Fe^{2+}) 与菲啰嗪 (Ferrozine) 结合形成稳定的紫红色络合物, 该络合物在 562nm 波长处具有最大吸收峰。当样品中存在螯合剂时, 螯合剂会优先与亚铁离子结合, 导致可供显色剂反应的游离亚铁离子减少, 从而降低显色反应体系的吸光度值。根据测试物在 562nm 处吸光度值的大小来判断测试物的亚铁离子螯合能力。

二、试剂盒的组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 25mL×1 瓶	4°C 避光保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4°C 避光保存	

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

- ① 组织样本: 称取 0.1g 样本 (若是干样可取 0.02-0.05g), 加入 1mL 的提取液进行匀浆, 匀浆后转入 2mL 离心管中, 12000rpm 4°C 离心 10min, 取上清待测。
- 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 的提取液, 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。
- ③ 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、检测步骤:

- ① 分光光度计预热 30min (等仪器过自检程序亦可), 调节波长至 562nm, 蒸馏水调零。
- ② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照	空白管 (仅做一次)
样本	300	300	
蒸馏水		500	300
试剂一	500		500
试剂二	50	50	50
混匀, 室温避光反应 20min, 取出全部澄清液体至 1mL 比色皿中, 于 562nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ 。			

【注】1. 若 A 测定-A 对照的差值与空白管接近, 可增加样本取样浓度;

2. 若 A 测定-A 对照的差值接近于 0, 可减少样本加样量 (如由 300μL 减少至 50μL, 额外加 250μL 纯水); 或者将样本上清液用水稀释后再加试剂反应。

五、结果计算:

亚铁离子螯合能力 (%) = $[A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})] \div A_{\text{空白}} \times 100\%$