

亚铁离子螯合能力检测 试剂盒（微量法）

货号：PMK1932BKM
规格：48T/24S 96T/48S
检测方法：比色法
储存条件：4℃避光保存 12 个月

建议正式实验前，选取 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验，如果样本吸光值不在检测范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

一、产品简介

研究背景：亚铁离子螯合能力（ Fe^{2+} Chelating Capacity）是衡量生物活性分子或功能性食品成分调控机体铁稳态的关键指标。铁作为人体必需的微量元素，虽是血红蛋白、肌红蛋白及多种酶系统的核心组分，但其过量释放的游离亚铁离子可通过 Fenton 反应催化生成高活性的羟基自由基，引发脂质过氧化和 DNA 损伤。适宜的亚铁离子螯合能力有助于将具有潜在毒性的“游离铁”转化为惰性的“贮存铁”或促进其排泄，从而在维持铁元素生理功用的同时，有效阻断氧化应激链式反应，是评价天然产物“预防性抗氧化”及金属解毒潜力的核心参数。

检测原理：本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本中的亚铁离子螯合能力。其原理是亚铁离子（ 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。

检测意义：铁稳态调控与疾病干预研究、铁代谢与氧化应激机制研究、天然产物/功能性成分筛选

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、培养上清、果汁、饮料、药物溶液等液体样本

二、产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	25mL	50mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃避光保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃避光保存
试剂四	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃避光保存
阳性对照	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存

三、需自备的仪器和用品

酶标仪或可见分光光度计（能测 562nm 处的吸光度）及水浴锅、96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、低温离心机、浓硫酸、去离子水、匀浆器（如果是组织样本）

四、试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前配制；每支加入 1mL 去离子水充分溶解；未用完的试剂分装-20℃可保存 3 个月。

试剂三：临用前配制；每支加入 900μL 去离子水和 20μL 浓硫酸，往上述 920μL 溶液中加入 20μL 试剂四母液，轻轻混匀得储备液，配制成的储备液分装-20℃可保存 1 个月。母液再用试剂一 1:20 稀释，如：取 10μL 母液加入 190μL 试剂一。稀释好的试剂三冰上放置，当天使用。

试剂四：临用前配制；每支加入 1mL 试剂一，得母液，分装-20℃冻存，每次用 1 管，4℃保存，1 周内用完。

阳性对照：临用前配制；加入 1mL 去离子水得母液，4 度保存。母液再 1:20 稀释，如：取 10μL 母液加入 190μL 去离子水。

工作液的配制：临用前配制，将试剂一、溶解后的试剂二按 10:1 的比例混合。工作液现配现用，冰上避光密封保存，尽量 1 小时内用完。

五、样本制备

动植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），12,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

培养上清、果汁、饮料、药物溶液等液体样本：直接检测，若有浑浊离心后取上清，根据预实验确定稀释倍数。药物可用提取液配成一定浓度，如：5mg/mL

注意：1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

2.如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

3.样本不能含有 EDTA、柠檬酸盐等可以螯合金属离子的物质。

六、实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 562nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

	空白孔 (μL)	空白对照孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)	阳性孔 (μL)
去离子水	20	20	0	10	0
阳性对照溶液	0	0	0	0	20
样本	0	0	20	20	0
试剂三	10	10	10	0	10
工作液	170	0	170	170	170
试剂一	0	170	0	0	0

充分混匀，37℃静置 10min，于 562nm 测定吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ； $\Delta A_{\text{空}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}$ ； $\Delta A_{\text{阳}} = A_{\text{阳性}} - A_{\text{空白对照}}$ （空白孔、空白对照孔和阳性孔只需做 1 个）

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果螯合能力大于 90%，样本可用试剂一进一步稀释；螯合能力小于 5%，建议加大样本量。若出现 $\Delta A_{测}$ 大于 $\Delta A_{空}$ ，可能是样本中干扰物的影响太大，可以将样本上清用试剂一稀释 2-50 倍后再测。动植物组织通常不稀释或稀释 5-10 倍，同一批样本稀释倍数尽可能保存一致。

七、结果计算

样本亚铁离子螯合能力计算公式：

$$\text{亚铁离子螯合能力}(\%) = (\Delta A_{空} - \Delta A_{测}) / \Delta A_{空} \times 100\%$$

附录：常见问题与解决方案 (FAQ)

问题	解决措施
计算时如果选择合适的计算公式？	动物组织及细胞微生物等，可以用质量或者细胞数量计算，也可以建议测蛋白浓度
	植物可建议用质量计算，也可以建议测蛋白
	血液或是其他液态样品，可建议用体积计算
	如客户要购买蛋白含量测定试剂盒，除了说明书强调用考马斯亮蓝法的，通常建议 BCA 法。动植物组织因为蛋白含量高，在 10mg/ml 左右，如果用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度的话通常需要用 PBS 缓冲液等稀释液进行稀释。
测定时如何进行调零？	除说明书中提示用对照管或某种试剂调零外，都用纯水调零。
试剂盒中样本提取时需要 0.1g 组织，我的样品量不够怎么办？	通常可以按比例缩小，如说明书中是约 0.1g 组织加 1ml 提取液，可以等比例缩小，如 0.05g 组织加 0.5ml 提取液提取。后续操作不变。
	对于数量少的样品，一方面可以减少提取液体积，另一方面还可以延长反应时

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1807BKM 血清总铁结合力(TIBC)检测试剂盒（微量法）

PMK1887BKM 亚铁离子检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

