

亚铁离子螯合能力试剂盒说明书

(货号：ADS-F-KY028 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℃保存	
试剂一	液体 25mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃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℃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℃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 (%) = $[A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})] \div A_{\text{空白}} \times 100\%$