



铁离子还原能力 (ferric reducing ability of plasma) 试剂盒

货号: R45143 微板法 96

产品简介:

抗氧化物可以还原 Fe^{3+} -三吡啶三吡嗪(Fe^{3+} -TPTZ)产生蓝色的 Fe^{2+} -TPTZ, 随后在 590nm 波长下测定蓝色的 Fe^{2+} -TPTZ 吸光值, 即可获得样品中的铁离子还原能力, 吸光值越高表示样品的还原能力越强。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体1.5mL×1支	4℃保存	
试剂三	液体1.5mL×1支	4℃保存	
标准品	粉体mg×1支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

有效期: 6个月

需自备的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、恒温水浴锅、低温离心机、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

铁离子还原能力测定:

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!

(一) 样本制备

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 80% 乙醇 (自备) 进行匀浆, 匀浆后转入 2mL 离心管中; 于 60℃、200-300W 条件下超声提取 30min (间隔 5min 振荡混匀一次); 12000rpm 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。



2.液体样本: 水溶性样本可直接检测;若是油性样本,可用 80% 乙醇溶解后再取上清检测。

(二) 上机检测

1.酶标仪预热 30min, 调节波长至 590nm。

2.显色液配置: 将试剂一、试剂二、试剂三按 10:1:1 的比例混合,使用前 37℃ 预温,现配现用,注意避光。

3.不同样本抗氧化能力不一,可先选取 2 个样本做检测,若吸光值 A 测定超过 1.5,需对样本用 80% 乙醇稀释,稀释倍数 D 代入后续公式计算。

4.在96 孔板加样(单位: μL):

试剂名称	测定管	空白管(只做一次)
样本	5	0
蒸馏水	25	30
显色液	170	170
混匀后, 室温25℃,准确反应10min,于590nm处读取吸光值A; $\Delta A=A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}}$;		

5.混匀后, 室温 25℃, 准确反应 10min, 于 590nm 处读取吸光值 A; $\Delta A=A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}}$ 。

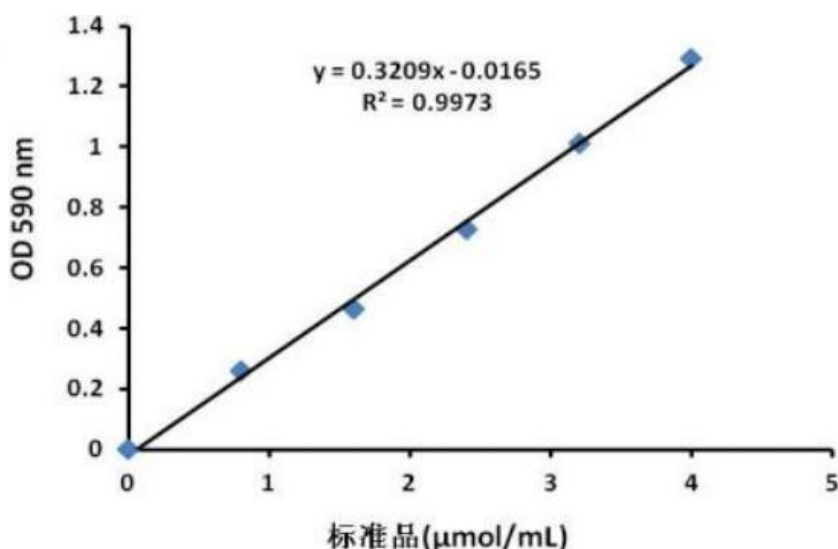
【注】1.若A测定值超过1.5,可对样本用提取液进行稀释,或减少样本上样量V1(如减至2 μL , 则提取液增至28 μL),则稀释倍数D或加样量V1需代入公式重新计算。

2. 若 ΔA 值在零附近,可增加样本量V1(如增至15 μL ,则蒸馏水相应减少), 则改变后的V1需代入公式重新计算。

结果计算:

(一) 标准曲线

标准曲线公式: $y=0.3209x-0.0165$ 其中, x是标准品(FeSO_4)摩尔浓度 ($\mu\text{mol/mL}$), y是 ΔA 。



(二) 组织样本

1.按样本质量计算:

$$\text{铁离子还原能力}(\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g鲜重})=[(\Delta A+0.0165)\div 0.3209\times V1]\div (V1\div V\times W)\times D$$
$$=3.12\times (\Delta A+0.0165)\div W\times D$$

2.按样本蛋白浓度计算铁离子还原能力

$$\text{铁离子还原能力}(\mu\text{mol FeSO}_4/\text{mg prot})=[(\Delta A+0.0165)\div 0.3209\times V1]\div (V1\times \text{Cpr})\times D$$
$$=3.12\times (\Delta A+0.0165)\div \text{Cpr}\times D$$

(三) 液体样本

$$\text{铁离子还原能力}(\mu\text{mol FeSO}_4/\text{mL})=[(\Delta A+0.0165)\div 0.3209\times V1]\div V1\times D$$
$$=3.12\times (\Delta A+0.0165)\times D$$

公式参数说明:

V: 加入提取液体积, 本试剂盒默认 1mL;

V1: 反应中样品体积, 常规加样为5μL=0.005 mL;

W: 样品质量, 单位 g;

D: 稀释倍数, 未稀释即为 1;

Cpr: 样本蛋白浓度, 单位 mg/mL, 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。



注意事项:

- 1.由于本方法是通过显蓝色测定吸光值, 因此尽量避免使用在酸性条件下呈蓝色或接近蓝色的试剂, 否则会对本试剂盒的检测结果产生干扰。
- 2.样本中不宜添加 Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂, 以及 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的还原剂。
- 3.如果样品测定出来的吸光值在标准曲线范围以外, 需把样品适当稀释或浓缩后再进行测定。
- 4.如果样本处理过程中施加了较高浓度的铁盐或亚铁盐, 会干扰测定, 此类样本不宜使用本测试方法。

附: 标准曲线制作过程

- 1.制备标准品母液 (100 μ mol/mL): 临用前向标准品粉体中加 1mL 蒸馏水, 充分溶解混匀。
- 2.梯度稀释: 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品: 0、0.8、1.6、2.4、3.2、4 μ mol/mL; 也可根据实际样本情况调整标准品浓度。
- 3.加样检测: 按照本说明书中测定管的加样体系操作, 依据检测结果即可制作标准曲线。