



铁离子还原能力测定试剂盒

可见分光光度法

货号: R43823-48S

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测定蓝色的 Fe^{2+} -TPTZ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	
试剂一	液体45mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体4.5mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	液体4.5mL×1瓶	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

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、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!

1、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。

2、上机检测：

①可见分光光度计预热30min，调节波长至590nm，蒸馏水调零。

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A测定超过2,需对样本用80%乙醇稀释，稀释倍数D代入公式计算。

④在EP管中依次加入：

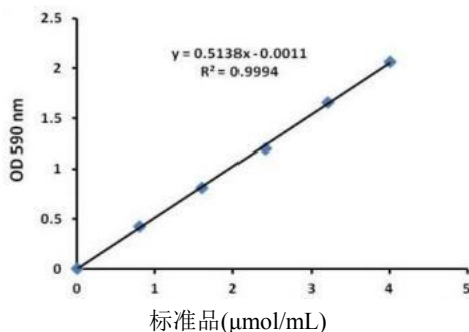
试剂名称(μL)	测定管	空白管(只做一次)
样本	20	0
蒸馏水	100	120
显色液	680	680
混匀，室温25℃准确反应10min,全部液体转移至1mL玻璃比色皿中，于590nm处读取吸光值A; $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【注】1.若A测定值超过2,可对样本用提取液进行稀释，或减少样本上样量V1(如减至10μL,则提取液增至110μL)，则稀释倍数D或加样量V1需代入公式重新计算。

2.若 ΔA 的值在零附近，可增加样本量V1(如增至40μL,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：

1、标准曲线： $y = 0.5138x - 0.0011$, x是标准品(FeSO₄)摩尔浓度(μmol/mL), y是 ΔA 。





2、组织样本:

(1)按样本质量计算:

$$\begin{aligned}& \text{铁离子还原能力}(\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g 重量}) \\& = [(\Delta A + 0.0011) \div 0.5138 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\& = 1.95 \times (\Delta A + 0.0011) \div W \times D\end{aligned}$$

(2)按样本蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned}& \text{铁离子还原能力}(\mu\text{mol FeSO}_4/\text{mg prot}) \\& = [(\Delta A + 0.0011) \div 0.5138 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \times D \\& = 1.95 \times (\Delta A + 0.0011) \div Cpr \times D\end{aligned}$$

3、液体样本:

$$\begin{aligned}& \text{铁离子还原能力}(\mu\text{mol FeSO}_4/\text{mL}) \\& = [(\Delta A + 0.0011) \div 0.5138 \times V1] \div V1 \times D \\& = 1.95 \times (\Delta A + 0.0011) \times D\end{aligned}$$

V-----加入提取液体积, 1mL;

V1----- 反应中样品体积, 20 μ L=0.02 mL;

W----样品质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为1;

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

【注意】:

1. 由于本方法是显蓝色测定吸光值, 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 等去垢剂和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. 如果样本中处理过程中施加了较高浓度的铁盐或亚铁盐, 会干扰测定, 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($100\mu\text{mol/mL}$): 临用前加1mL 蒸馏水, 充分溶解混匀。
- 2 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 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本 来调整标准品浓度。
- 3 按照测定管加样体系操作, 依据结果即可制作标准曲线。



源叶