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

（货号：G0152F 分光法 48 样）

一、产品简介：

抗氧化物可以还原 Fe^{3+}-三吡啶三吖嗪(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。

二、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

三、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。

四、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；△A=A 测定-A 空白。		

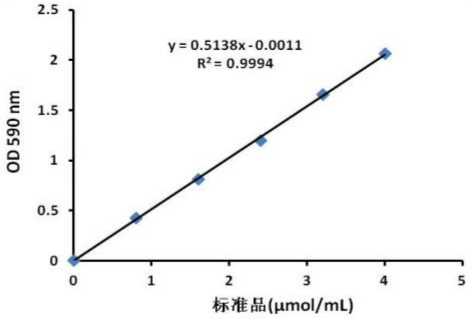
【注】1. 若 A 测定值超过 2，可对样本用提取液进行稀释，或减少样本上样量 V1（如减至 10μL，则提取液增至 110μL），则稀释倍数 D 或加样量 V1 需代入公式重新计算。

2. 若△A 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。

五、结果计算：

1、标准曲线：y = 0.5138x - 0.0011，x 是标准品（$FeSO_4$）摩尔浓度（μmol/mL），y 是△A。



2、组织样本：

（1）按样本质量计算：

铁离子还原能力(μmol $FeSO_4$/g 重量)=[(△A+0.0011)÷0.5138×V1]÷(V1÷V×W)×D

=1.95×(△A+0.0011)÷W×D

（2）按样本蛋白浓度计算：

铁离子还原能力(μmol $FeSO_4$/mg prot)=[(△A+0.0011)÷0.5138×V1]÷(V1×Cpr)×D

=1.95×(△A+0.0011)÷Cpr×D

3、液体样本：

铁离子还原能力(μmol $FeSO_4$/mL)=[(△A+0.0011)÷0.5138×V1]÷V1×D

=1.95×(△A+0.0011)×D

V----加入提取液体积，1 mL； V1----反应中样品体积，20μL=0.02 mL；

W----样品质量，g； D---稀释倍数，未稀释即为 1；

Cpr----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（100μmol/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 μmol/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。