

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

(货号: G0152W 微板法 96 样)

### 一、产品简介:

抗氧化物可以还原  $\text{Fe}^{3+}$ -三吡啶三吡嗪( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ)产生蓝色的  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ, 随后在 590nm 测定蓝色的  $\text{Fe}^{2+}$ -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 | 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 |

### 三、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。

### 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 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 A 测定超过 1.5, 需对样本用 80%乙醇稀释, 稀释倍数 D 代入公式计算。

##### ④ 在 96 孔板中依次加入:

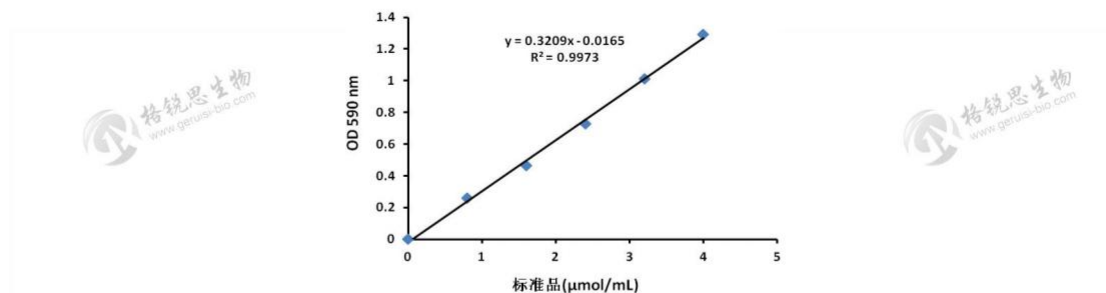
| 试剂名称 (μL)                                                                               | 测定管 | 空白管 (只做一次) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----|------------|
| 样本                                                                                      | 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; $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ; |     |            |

【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 2μL, 则提取液增至 28μL), 则稀释倍数 D 或加样量 V1 需代入公式重新计算。

2. 若  $\Delta A$  的值在零附近, 可增加样本量 V1 (如增至 15μL, 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： $y = 0.3209x - 0.0165$ ， $x$  是标准品（ $\text{FeSO}_4$ ）摩尔浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ）， $y$  是  $\Delta A$ 。



## 2、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：

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

## 3、液体样本：

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

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---反应中样品体积，5  $\mu\text{L}$  = 0.005 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（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。