

## 总还原力试剂盒(分光法)

产品货号: BA3408

产品规格: 96样

### 产品简介:

总还原力是评估物质中还原性成分含量的综合指标, 主要用于测定其抗氧化能力或还原潜力。该指标通过定量分析样品中能提供电子的物质总量, 为环境监测、食品工业及生物化学研究提供关键数据支持。

样品将铁氰化钾还原成亚铁氰化钾, 亚铁氰化钾再与三氯化铁反应生成普鲁士蓝, 随后在700nm测定普鲁士蓝的吸光度即可获得样品中的总还原力。

### 产品内容:

产品名称	96样	保存条件	注意事项
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃, 避光	1. 开盖前可甩动几下, 使粉剂落入容器底部; 2. 临用前加入21mL水充分溶解备用; 3. 溶解后的试剂与试剂盒有效期相同(注意保存期间留意是否变色, 变色不能使用)。
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体10mL×1瓶	2-8℃, 避光	
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	4. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 5. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 6. 溶解后的标品一周内用完。

### 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)。

### 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, 室温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

##### 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 500 万细菌或细胞加入 1mL 的提取液进行匀浆; 匀浆后转入 2mL 离心管中 12000rpm, 室温离心 10min, 取上清置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量( $10^4$ 个): 提取液(mL)为 1000~5000:1 比例进行提取。

##### ③ 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. 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 700nm, 蒸馏水调零。

##### ② 在离心管中依次加入:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	150	
提取液		150
试剂一	200	200
试剂二	200	200
混匀, 于 50°C 水浴 20min		
试剂三	200	200
混匀, 5000rpm 室温离心 5min, 取出全部上清液待下一步反应		

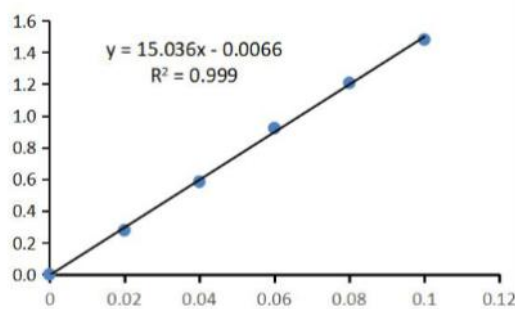
### ③ 显色反应

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
上清液	450	450
水	450	450
试剂四	100	100
混匀, 室温反应 10min, 取出全部澄清液体至 1mL 比色皿中, 于 700nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$		

【注】若  $\Delta A$  的值在零附近, 可增加样本量 V1 (如增至 50μL 或更多, 则试剂一相应减少), 或增加取样浓度, 则改变后的 V1 和 W 需代入公式重新计算。

### 结果计算:

1. 标准曲线:  $y = 15.036x - 0.0066$ , x 是标准品浓度 (mg/mL), y 是  $\Delta A$ 。



2. 定义: 用从标准曲线上获得的抗氧化剂的量来表示样本的总还原力。

3. 按样本质量计算:

$$\begin{aligned} \text{总还原力}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0066) \div 15.036 \times V1 \times 10^3] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 66.51 \times (\Delta A + 0.0066) \div W \times D \end{aligned}$$

4. 按蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned} \text{总还原力}(\mu\text{g/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0066) \div 15.036 \times V1 \times 10^3] \div (V1 \div V \times Cpr) \times D \\ &= 66.51 \times (\Delta A + 0.0066) \div Cpr \times D \end{aligned}$$

5. 液体样本计算:

$$\begin{aligned} \text{总还原力}(\mu\text{g/mL}) &= [(\Delta A + 0.0066) \div 15.036 \times V1 \times 10^3] \div V1 \times D \\ &= 66.51 \times (\Delta A + 0.0066) \times D \end{aligned}$$

6. 按细菌或细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{总还原力}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0066) \div 15.036 \times V1 \times 10^3] \div (V1 \div V \times 500) \times D \\ &= 0.133 \times (\Delta A + 0.0066) \times D \end{aligned}$$

V----加入提取液体积, 1mL; V1----反应中样品体积, 150μL=0.15mL;

W----样品质量, g; 500---细菌或细胞总数, 万;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

Cpr---上清液蛋白浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒

#### 附：标准曲线制作过程：

1. 标曲为非必做实验，用户可根据实验需求制作标曲，亦可直接采用说明书计算公式进行结果计算；
2. 制备标准品母液（1mg/mL）：在标准管中直接加入 2mL 纯水充分溶解，即 1mg/mL 标准品母液备用。
3. 把母液用水稀释成以下浓度梯度的标准品：0，0.02，0.04，0.06，0.08，0.1mg/mL。

吸取 100uL 标准品母液至新的离心管中，加入 900uL 水，混匀作为标品稀释液备用。						
标品浓度 mg/mL	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

4. 按照测定管加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线。

试剂名称（μL）	测定管	0 浓度管（仅做一次）
标品	150	
提取液		150
试剂一	200	200
试剂二	200	200
混匀，于 50℃ 水浴 20min		
试剂三	200	200
混匀，5000rpm 室温离心 5min，取出全部上清液待下一步反应		

显色反应：

试剂名称（μL）	测定管	0 浓度管（仅做一次）
上清液	450	450
水	450	450
试剂四	100	100
混匀，室温反应 10min，取出全部澄清液体至 1mL 比色皿中，于 700nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{测定} - A_{0 浓度管}$ 。		



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com