

总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒 (可见分光光度法)

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号: BA1467

产品规格: 50管/48样

产品内容:

提取液: 液体50mL×1瓶, 4℃保存, 使用前预冷。

试剂一: 液体35mL×1瓶, 4℃保存。

试剂二: 液体20mL×1瓶, 4℃避光保存。

试剂三: 液体5mL×1瓶, 4℃避光保存。

标准品: 粉剂×1支, 10mgFeSO₄·7H₂O, 4℃保存。临用前加入1.75ml蒸馏水, 滴加1滴浓硫酸, 制备20μmol/mL FeSO₄标准溶液。

混合液(现配现用): 将试剂一、试剂二、试剂三按7:1:1的比例混合, 使用前预温至37℃。

产品说明:

测定对象中各种抗氧化物质和抗氧化酶等构成总抗氧化水平。在生物学、医学和药学研究中常常检测血浆、血清、唾液、尿液等各种体液, 细胞或组织等裂解液、植物或中草药抽提液及各种抗氧化物(antioxidant)溶液的总抗氧化能力。

在酸性环境下, 还原Fe³⁺-三吡啶三吡嗪(Fe³⁺-TPTZ)产生蓝色的Fe²⁺-TPTZ 的能力反映了总抗氧化能力。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、恒温水浴锅、低温离心机、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

操作步骤:

一、样品的制备:

(1) 血清、血浆、唾液或尿液样品

血浆(制备时可以使用肝素或柠檬酸钠抗凝, 不宜使用EDTA抗凝) 5000r/min离心10min, 取上清待测。血清、唾液或尿液样品直接用于测定, 也可以-80℃冻存(不宜超过30 d)后再测定。

(2) 细胞或组织样品收集约100-200万个细胞或者约0.1g组织, 加入1.0mL预冷的提取液, 匀浆或超声以充分破碎细胞并释放其中的抗氧化物, 4℃、10000r/min 离心5分钟, 取上清待测。需测定蛋白浓度。

二测定步骤

1、标准曲线绘制:

将20μmol/mL FeSO₄标准溶液稀释至 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156μmol/mL, 分别取500μL标准溶液(蒸馏水作空白)加入500μL试剂二, 充分混匀, 反应10min, 双蒸水调零, 1cm光径, 测定A₅₉₃, 计算ΔA=A标准-A空白, 此时Fe²⁺终浓度为 0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156、0.00078μmol/mL。

2、分光光度计预热30min以上, 调节波长至593nm, 蒸馏水调零。

3、操作表

试剂名称 (μL)	空白管 (μL)	测定管 (μL)
混合液	900	900
样本		30
双蒸水	120	90



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

充分混匀，反应10min，双蒸水调零，1cm光径，测定A593，计算 $\Delta A' = A$ 测定-A空白管。（注：空白管只需测定一次）

三、总抗氧化能力计算

1、标准曲线绘制

以 Fe^{2+} 终浓度为横坐标，以 ΔA 为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A'$ 带入方程求得 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

2、计算公式：

单位定义：样品的抗氧化能力以达到同样吸光度变化值 (ΔA) 所需的标准液离子浓度表示。

(1) 按蛋白浓度计算

总抗氧化能力 (U/mg prot) = $x \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = 34 \times x \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样品质量计算

总抗氧化能力 (U/g鲜重) = $x \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 34 \times x \div W$

(3) 按细胞数量计算

总抗氧化能力 (U/ 10^4 cell) = $x \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = 34 \times x \div \text{细胞数量}$

(4) 按液体体积计算

总抗氧化能力 (U/mL) = $x \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 34 \times x$

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，1.02mL； $V_{\text{样}}$ ：反应中样品体积，0.03mL； W ：样品质量，g； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞数量：以 10^4 为单位，万个。

注意事项：

1. 试剂二对人体有刺激性，请采取适当的防护措施。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴乳胶手套操作。
2. 尽量避免使用在酸性条件下呈蓝色或接近蓝色的样本，否则对本试剂盒的检测结果产生干扰。
3. 样品中不宜添加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。
4. 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。
5. 试剂盒2-8℃保存。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com