

## 总抗氧化能力（T-AOC）检测试剂盒（可见分光光度法）

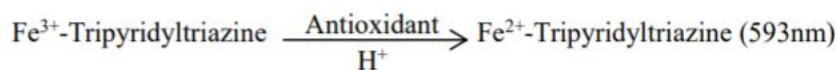
产品货号：BA1467

产品规格：50管/48样

### 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Fe<sup>3+</sup>-三吡啶三吡嗪(Fe<sup>3+</sup>-TPTZ)产生蓝色的Fe<sup>2+</sup>-TPTZ 的能力反映了总抗氧化能力。



### 技术指标：

最低检出限：0.00056 μmol/mL

线性范围：0.00078125-0.05 μmol/mL

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体35mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体5mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 提取液：使用前置于4℃冰箱或冰上预冷；
2. 标准品：10mg FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O。临用前加入0.9mL蒸馏水，20μL浓硫酸，配制成40μmol/mL FeSO<sub>4</sub>标准溶液备用；
3. 混合液：将试剂一、试剂二、试剂三按7:1:1的比例混合，现配现用，用多少配多少。使用前置于37℃水浴锅或37℃恒温培养箱中预热10min。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、恒温水浴锅、低温离心机、细胞超声破碎仪、研钵/匀浆器、浓硫酸、冰和蒸馏水。

### 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。



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

## 2. 细胞或细菌样本

收集细胞或细菌于离心管中。按照细胞或细菌数量 ( $10^4$ ) : 提取液体积 (mL) 为500~1000:1的比例, 加入1.0mL预冷的提取液 (建议取500万细胞, 加入1mL预冷的提取液), 超声破碎细胞 (功率200W, 超声开3s, 关 9s, 总时间3min), 然后10000rpm, 4℃离心10min, 取上清置于冰上待测。

## 3. 组织样本

按照组织质量 (g) : 提取液体积 (mL) 为1 : 5~10的比例 (建议称取约0.1g组织, 加入1mL预冷的提取液) 进行冰浴匀浆, 然后10000rpm, 4℃离心10min, 取上清置于冰上待测。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上, 调节波长至593nm, 蒸馏水调零。

2. 标准溶液的制备: 将40  $\mu\text{mol/mL}$  标准溶液用蒸馏水稀释为0.1、0.05、0.025、0.0125、0.0625、0.003125 $\mu\text{mol/mL}$  标准溶液备用。

3. 标准液稀释可参考下表:

序号	稀释前浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )	标准液体积 ( $\mu\text{L}$ )	蒸馏水体积 ( $\mu\text{L}$ )	稀释后浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )
1	40	50	950	2
2	2	100	1900	0.1
3	0.1	1000	1000	0.05
4	0.05	1000	1000	0.025
5	0.025	1000	1000	0.0125
6	0.0125	1000	1000	0.00625
7	0.00625	1000	1000	0.003125

备注: 实验中每个标准管需500 $\mu\text{L}$ 标准溶液。

4. 分别取500 $\mu\text{L}$ 标准溶液 (蒸馏水作空白) 加入500 $\mu\text{L}$ 试剂二, 充分混匀, 反应10min, 测定593nm下的吸光度, 计算 $\Delta A$ 标准=A标准-A空白, 此时 $\text{Fe}^{2+}$ 终浓度为0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156 $\mu\text{mol/mL}$ 。标准曲线只需做1-2次。

5. 操作表:

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 ( $\mu\text{L}$ )	测定管 ( $\mu\text{L}$ )
混合液	900	900
样本	-	30
蒸馏水	120	90

充分混匀, 室温准确反应10min, 取1mL于1mL玻璃比色皿中测定593nm下的吸光度, 计算 $\Delta A$ 测定=A测定-A空白, 空白管只需测1-2次。

## 三、总抗氧化能力计算

### 1. 标准曲线绘制

根据 $\text{Fe}^{2+}$ 终浓度 ( $x$ ,  $\mu\text{mol/mL}$ ) 和吸光度  $\Delta A$ 标准 ( $y$ ,  $\Delta A$ 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将  $\Delta A$ 测定 ( $y$ ,  $\Delta A$ 测定) 带入公式计算样本浓度 ( $x$ ,  $\mu\text{mol/mL}$ )。

### 2. 计算公式:

单位定义: 样本的抗氧化能力以达到同样吸光度变化值 ( $\Delta A$ ) 所需的标准液离子浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ ) 表示。

#### (1) 按蛋白浓度计算

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

#### (2) 按样本质量计算

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

#### (3) 按细胞数量计算



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

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

(4) 按液体体积计算

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

V样总: 加入提取液体积, 1mL; V反总: 反应总体积, 1.02mL; V样: 反应中样品体积, 0.03mL; W: 样品质量, g; Cpr: 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。

#### 实验实例:

取 0.1g 三叶草叶片加入 1mL 预冷的提取液进行匀浆研磨, 取上清后按照测定步骤操作, 测得计算 $\Delta A$  测定 = A 测定 - A 空白 = 0.909 - 0.148 = 0.761, 带入标曲  $y = 21.056x - 0.0087$ , 得出  $x = 0.037$ , 按样本质量计算得: 总抗氧化能力 ( $\mu\text{mol/g}$  质量) =  $34 \times x \div W = 34 \times 0.037 \div 0.1 = 12.58 \mu\text{mol/g}$  质量。



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