

## 总抗氧化能力（T-AOC）检测试剂盒（微量法）

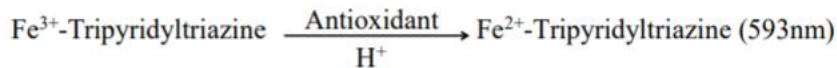
产品货号：BA1468

产品规格：100管/96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 $Fe^{3+}$ -三吡啶三吡嗪( $Fe^{3+}$ -TPTZ)产生蓝色的 $Fe^{2+}$ -TPTZ的能力反映了总抗氧化能力。



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。

### 技术指标：

最低检出限：0.000567243  $\mu\text{mol/mL}$

线性范围：0.00078125-0.1  $\mu\text{mol/mL}$

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体6mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体2mL×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2-8℃冰箱或冰上预冷；
2. 标准品：10mg  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 。临用前加入0.9mL蒸馏水，滴加20 $\mu\text{L}$ 浓硫酸，制备40 $\mu\text{mol/mL}$   $FeSO_4$ 标准溶液；
3. 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，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：

恒温水浴锅、低温离心机、细胞超声破碎仪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、浓硫酸、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

##### 1. 血清、血浆、唾液或尿液样本

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、唾液或尿液样本直接用于测定，也可以-80℃冻存（不宜超过30d）后再测定。

##### 2. 细胞或细菌样本



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

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. 分光光度计或酶标仪预热30min以上, 调节波长至593nm, 分光光度计用蒸馏水调零。
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0.15、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156 $\mu\text{mol/mL}$ 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	75	925	0.15
3	2	50	950	0.1
4	0.1	200	200	0.05
5	0.05	200	200	0.025
6	0.025	200	200	0.0125
7	0.0125	200	200	0.00625
8	0.00625	200	200	0.003125

备注: 实验中每个标准管需100 $\mu\text{L}$ 标准溶液。

4. 吸取100 $\mu\text{L}$ 标准溶液 (蒸馏水作空白) 加入100 $\mu\text{L}$ 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0.075、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156、0.00078  $\mu\text{mol/mL}$ , 标准曲线只需做1-2次。
5. 操作表

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	空白管	测定管
混合液	180	180
样本	-	6
蒸馏水	24	18

充分混匀, 室温准确反应10min, 吸取200 $\mu\text{L}$ 于微量玻璃比色皿/96孔板, 测定593nm吸光值。计算 $\Delta A$ 测定=A测定-A空白, 空白管只需测1-2次。

## 三、总抗氧化能力计算公式

### 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

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

#### (2) 按样本质量计算

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

#### (3) 按细胞数量计算

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



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

#### (4) 按液体体积计算

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

V样总：加入提取液体积，1mL；V反总：反应总体积，0.204mL；V样：反应中样本体积，0.006mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞数量：以  $10^4$  为单位，以万计。

#### 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。
4. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

#### 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，用96孔板测得计算 $\Delta A$ 测定=A测定-A空白=0.490-0.139=0.351，带入标曲 $y=14.039x-0.0029$ ，得出 $x=0.025$ ，按样本质量计算得：总抗氧化能力 ( $\mu\text{mol/g}$  质量) =  $34 \times x \div W = 34 \times 0.025 \div 0.1 = 8.5 \mu\text{mol/g}$  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