



总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒
Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒

Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit

一、产品描述

总抗氧化能力是指各种抗氧化物质和抗氧化酶等构成的总抗氧化水平,如抗氧化物酶、维生素 C、维生素 E 和胡萝卜素等,为保护细胞和机体免于活性氧自由基造成的氧化应激损伤。通过检测血浆、唾液、尿液等体液、细胞或组织等裂解液、植物或中草药等抽提液及各种抗氧化物溶液的总抗氧化能力,对全面科学地评价抗氧化物质的抗氧化能力具有重要意义。

本产品采用 FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) 法测定总抗氧化能力,其原理是酸性条件下抗氧化物能够将 Fe^{3+} -TPTZ 还原为蓝色的络合物 Fe^{2+} -TPTZ,产物在 593 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值的变化可以反映待测样品的还原能力,即样品的总抗氧化能力。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	4°C 预冷后使用
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	4°C 保存	使用前加入 900 μL 蒸馏水和 20 μL 浓硫酸 (即为 40 $\mu\text{mol/mL}$ FeSO_4 标准液)
FRAP 工作液 (现配现用): 根据使用量按试剂一: 试剂二: 试剂三=10:1:1 的体积比例配制。			

需自备试剂: 浓硫酸 (H_2SO_4 , MW = 98.078, CAS: 7664-93-9)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、浓硫酸和蒸馏水。

1. 样品处理 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

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

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万细菌或细胞加入1 mL预冷的提取液),冰浴超声破碎(功率200 W,超声3 s,间隔10 s,重复30次),4°C 10000 g离心5 min,取上清置于冰上待测。

③血清、血浆、唾液或尿液等液体样本: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),4°C 5000 g离心10 min,取上清置于冰上待测;血清、唾液或尿液样品可直接测定,也可以-80°C冻存(不宜超过30 d)后再进行测定。

2.测定步骤

①分光光度计/酶标仪预热30 min以上,调节波长至593 nm,蒸馏水调零。

②试验前将FRAP工作液37°C预热20 min。

③标准曲线的建立:将40 $\mu\text{mol/mL}$ FeSO_4 标准液使用蒸馏水稀释至0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625 $\mu\text{mol/mL}$ 。

序号	1	2	3	4	5	6
标准液浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125	0.00625
标准液体积 (μL)	100	100	100	100	100	100
试剂二体积 (μL)	100	100	100	100	100	100
Fe^{2+} 终浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	0.1	0.05	0.025	0.0125	0.00625	0.003125
空白组 1: 100 μL 蒸馏水+100 μL 试剂二 (空白组 1 只需测定 1-2 次)						

充分混匀,室温显色10 min,测定593 nm处吸光值,记为A标准和A1空白,计算 ΔA 标准=A标准-A1空白;以 Fe^{2+} 终浓度0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125为横坐标(x),以 ΔA 标准为纵坐标(y)绘制标准曲线,得到线性回归方程 $y=kx+b$ 。

④在96孔板或离心管中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μL)	空白组 2 (μL)
FRAP 工作液	180	180
待测样本	10	-
蒸馏水	10	20
充分混匀,反应10 min		

吸光值测定:测定593 nm处吸光值,记为A测定和A2空白,计算 ΔA 测定=A测定-A2空白,将 ΔA 测定带入标准曲线方程 $y=kx+b$,计算样品浓度x ($\mu\text{mol/mL}$)。注:空白组 2 只需测定 1-2 次。

3.总抗氧化能力（T-AOC）计算

单位定义：样品总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按组织蛋白浓度计算

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}} = \frac{20 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W} = \frac{20 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量}} = \frac{20 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} = 20 \times x$$

注释： V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.01 mL；W：样品质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

- ①试剂二具有刺激性应避免接触，注意采取适当的防护措施，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 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若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

