

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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃
试剂二	液体6mL×1瓶	4℃
试剂三	液体2mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

溶液的配制：

1. 提取液：使用前预冷；
2. 标准品：10mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 。临用前加入0.9mL蒸馏水，滴加20 μ L浓硫酸，制备40 μ 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，使用前预温至37℃。

技术指标：

最低检出限：0.000567243 μ mol/mL

线性范围：0.00078125-0.1 μ mol/mL

需自备的仪器和用品：

恒温水浴锅、低温离心机、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、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. 细胞或组织样本

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。按蛋白浓度计算需测定蛋白浓度。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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，蒸馏水调零。

2. 标准曲线绘制：

将40 $\mu\text{mol/mL}$ FeSO₄标准溶液用蒸馏水稀释至0.15、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156 $\mu\text{mol/mL}$ ，吸取100 μL 标准溶液（蒸馏水作空白）加入100 μL 试剂二，充分混匀，反应10min，测定593nm下的吸光度，计算 $\Delta A = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ，此时Fe²⁺终浓度为0.075、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156、0.00078 $\mu\text{mol/mL}$ 。

3. 操作表

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
混合液	180	180
样本	-	6
双蒸水	24	18

充分混匀，反应10min，吸取200 μL 于微量玻璃比色皿/96孔板，测定593nm吸光值。计算 $\Delta A' = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ （注：空白管只需测定1-2次）。

二、总抗氧化能力计算公式

1. 标准曲线绘制

以Fe²⁺终浓度为横坐标（x），以 ΔA 为纵坐标（y）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：样本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（ $\mu\text{mol/mL}$ ）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

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

(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；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞数量：以10⁴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. 如果样本测定出来的吸光值在标准曲线范围以外，需把样本适当稀释或浓缩后再进行测定。
5. 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com