

总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒 (微量法)

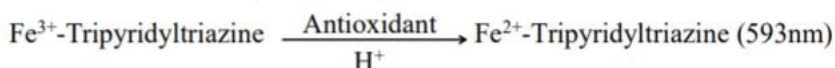
产品货号: BA1468

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 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。临用前加入0.9mL蒸馏水,滴加20 μL 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。



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

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 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	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 μL 标准溶液。

4. 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 ΔA 标准=A标准-A空白, 此时 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 (μL)	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 μL 于微量玻璃比色皿/96孔板, 测定593nm吸光值。计算 ΔA 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 Fe^{2+} 终浓度 (x, $\mu\text{mol/mL}$) 和吸光度 ΔA 标准 (y, ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定 (y, ΔA 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 (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

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



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

(3) 按细胞数量计算

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

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

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 ΔA 测定= $A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.490 - 0.139 = 0.351$, 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 ($\mu\text{mol}/\text{g}$ 质量) = $34 \times x \div W = 34 \times 0.025 \div 0.1 = 8.5 \mu\text{mol}/\text{g}$ 质量。



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>