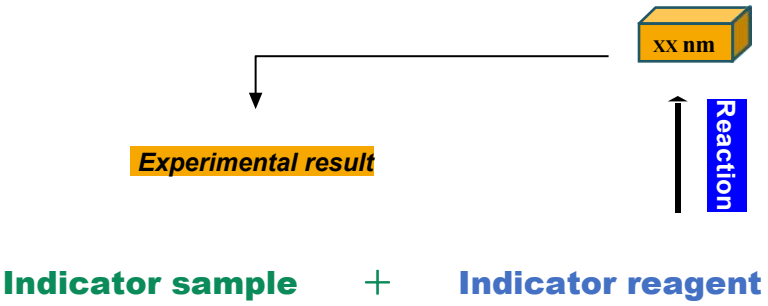
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0627　　规格：50管/48样

总抗氧化能力（T-AOC）检测试剂盒说明书
可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体50mL×1瓶	4℃保存	使用前预冷
试剂一	液体35mL×1瓶	4℃保存	-
试剂二	液体20mL×1瓶	4℃避光保存	-
试剂三	液体5mL×1瓶	4℃避光保存	-
标准品	粉剂×1支	4℃保存	10mg$FeSO_4 \cdot 7H_2O$，临用前加入 1.75ml 蒸馏水，滴加 1 滴浓硫酸，制备 20μmol/mL $FeSO_4$ 标准溶液。
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℃。			

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+}-三吡啶三吖嗪(Fe^{3+}-TPTZ)产生蓝色的 Fe^{2+}-TPTZ 的能力反映了总抗氧化能力。

自备实验用品：

可见分光光度计、恒温水浴锅、低温离心机、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

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。

2　细胞或组织样品

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。需测定蛋白浓度。

二测定步骤

1、标准曲线绘制：

将 20μmol/mL $FeSO_4$ 标准溶液稀释至 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156μmol/mL，分别取 500μL 标准溶液（蒸馏水作空白）加入 500μL 试剂二，充分混匀，反应10min，双蒸水调零，1cm 光径，测定 A_{593}，计算ΔA=A 标准-A 空白，此时 Fe^{2+}终浓度为 0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156、0.00078μmol/mL。

2、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 593nm，蒸馏水调零。

3、操作表

	空白管	测定管
混合液（μL）	900μL	900μL
样品（μL）		30μL
双蒸水（μL）	120μL	90μL
充分混匀，反应 10min，双蒸水调零，1cm 光径，测定 A_{593}，计算△A´=A测定-A 空白管。（注：空白管只需测定一次）		

三、总抗氧化能力计算

1、标准曲线绘制

以 Fe^{2+}终浓度为横坐标，以△A 为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程 y=kx+b，将△A´带入方程求得 x(μmol/mL)。

2、计算公式：

单位定义：样品的抗氧化能力以达到同样吸光度变化值（△A）所需的标准液离子浓度表示。

（1）按蛋白浓度计算

总抗氧化能力（U/mg prot）=x× V反总÷（V样× Cpr）=34×x÷ Cpr

（2）按样品质量计算

总抗氧化能力（U/g鲜重）=x× V反总÷（V样÷V样总×W）=34×x÷ W

（3）按细胞数量计算

总抗氧化能力（U/10^4cell）= x×V反总÷（V样÷V样总×细胞数量）= 34×x÷ 细胞数量

（4）按液体体积计算

总抗氧化能力（U/mL）=x× V反总÷V样 =34×x

V 样总：加入提取液体积，1 mL； 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。

5 试剂盒 2-8℃保存。