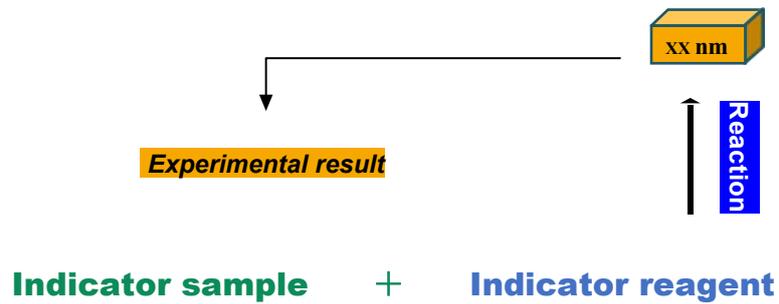


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

总抗氧化能力(T-AOC) 检测试剂盒说明书

微量法

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。

产品内容

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	-	使用前预冷
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂三	液体 2mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支	-	10mgFeSO ₄ ·7H ₂ O。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 7:1:1 的比例混合，使用前 37°C预温			

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 Fe³⁺-三吡啶三吡嗪(Fe³⁺-TPTZ)产生蓝色的 Fe²⁺-TPTZ 的能力反映了总抗氧化能力。

自备实验用品：

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 孔板和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品的制备：

a. 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°C冻存（不宜超过 30 d）后再测定。

b. 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°C、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 20 $\mu\text{mol/mL}$ FeSO_4 标准溶液稀释至 0.4、0.2、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, 双蒸水调零, 测定 A_{593} , 计算 $\Delta A = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$, 此时 Fe^{2+} 终浓度为 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156、0.00078 $\mu\text{mol/mL}$ 。

2、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。3、操作表

	对照管	测定管
混合液 (μL)	180 μL	180 μL
样品 (μL)		6 μL
双蒸水 (μL)	24 μL	18 μL
充分混匀, 反应 10min, 双蒸水调零, 吸取 200 μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板, 测定 593nm 吸光值。计算 $\Delta A' = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (注: 对照管只需测定一次)。		

三、总抗氧化能力计算公式:

1、标准曲线绘制

以 Fe^{2+} 终浓度为横坐标, 以 ΔA 为纵坐标绘制标准曲线, 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: 样品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表示。计算公式:

(1) 按蛋白浓度计算

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

(2) 按样品质量计算

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

(3) 按细胞数量计算

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

(4) 按液体体积计算

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

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.204mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 0.006mL; W : 样品质量, g; C_{pr} : 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品, 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°C 保存。