

总抗氧化能力(T-AOC) 含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0273	总抗氧化能力(T-AOC) 含量检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 50mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂二	液体 5mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂三	液体 5mL × 1 瓶	4℃, 避光
混合液 (现用现配) : 将试剂一、试剂二、试剂三按 10:1:1 的比例混合, 使用前 37℃ 预温。		

一、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, 抗氧化物质还原 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。

二、自备材料

可见分光光度计、低温台式离心机、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。10000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 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 1mL 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 10000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血清、血浆、唾液、尿液等样品: 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; 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℃, 5000rpm 离心 10min, 取上清待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 593nm, 蒸馏水调零。
- 2、在 1.5mL 离心管依次操作:

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样品		50
提取液	50	
混合液	950	950

充分混匀, 反应 20min, 于 1mL玻璃比色皿, 测定 593nm 吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。
空白管只需测定一次; 若测定管吸光值大于2, 则需要用提取液稀释。

五、总氧化能力计算公式

标准曲线: $y = 2.4832x + 0.0134$; $R^2 = 0.9996$. x: TroLox 浓度($\mu\text{mol/mL}$), y: 吸光值差值 ΔA .
单位定义: 用从标准曲线上获得的抗氧化剂 TroLox 的量来表示样本的总抗氧化能力。

1、按照样本蛋白浓度计算:

总抗氧化能力 ($\mu\text{mol TroLox/mg prot}$) = $(\Delta A - 0.0134) \div 2.4832 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{Cpr})$
= $0.4027 \times (\Delta A - 0.0134) \div \text{Cpr}$ 。

2、按照样本鲜重计算:

总抗氧化能力 ($\mu\text{mol TroLox/g 鲜重}$) = $(\Delta A - 0.0134) \div 2.4832 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)$
= $0.4027 \times (\Delta A - 0.0134) \div W$ 。

3、按照细胞数量计算:

总抗氧化能力 ($\mu\text{mol TroLox}/10^4 \text{ceLL}$) = $(\Delta A - 0.0134) \div 2.4832 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)})$
= $0.4027 \times (\Delta A - 0.0134) \div \text{细胞数量 (万个)}$ 。

4、按照液体体积计算:

总抗氧化能力 ($\mu\text{mol TroLox/mL}$) = $(\Delta A - 0.0134) \div 2.4832 = 0.4027 \times (\Delta A - 0.0134)$ 。

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 50 μL ; W : 样品质量, g;
 Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL。

六、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试剂, 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。