

总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒 (FRAP 法/微量法)

货号: PMK1051BKM

规格: 48T/48S 96T/96S

检测方法: 比色法

储存条件: -20℃避光保存 12 个月

💡 建议正式实验前, 选取 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验, 如果样本吸光值不在检测范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

一、产品简介

研究背景: 抗氧化剂在防止自由基和其他潜在有毒氧化物质的形成和清除方面发挥着重要作用。抗氧化剂种类分为三类: 酶类 (GSH 还原酶、过氧化氢酶、过氧化物酶等)、小分子类 (抗坏血酸、尿酸、GSH、维生素 E 等) 和蛋白质类 (白蛋白、转铁蛋白等)。由于氧化应激会导致许多疾病的发展, 包括阿尔茨海默病、帕金森病、糖尿病、类风湿性关节炎和神经变性, 抗氧化剂在药理学中的应用得到了深入研究。

检测原理: 本试剂盒提供了一种简便的比色测定法, 用于测定样本中的总抗氧化能力。其原理是在酸性环境下, 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, 在 593nm 测定 Fe^{2+} -TPTZ 的含量, 即可获得样品中的总抗氧化能力。

检测范围: 4 $\mu\text{mol/mL}$ -0.0625 $\mu\text{mol/mL}$ (标准品浓度) 灵敏度: 0.0313 $\mu\text{mol/mL}$ (标准品浓度)

📊 **检测意义:** 氧化应激机制研究、天然活性成分筛选、功能性食品功效评价。

🔑 **适用样本:** 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆)、培养上清、药物、果汁、饮料等液体样本。

二、产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃保存
试剂一	20mL	40mL	4℃保存
试剂二	1mL	2mL	-20℃避光保存
试剂三	1mL	2mL	-20℃避光保存
阳性对照	1mg	1mg	4℃避光保存
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃避光保存
标准品稀释液	5mL	10mL	4℃保存

三、需自备的仪器和用品

📖 酶标仪或可见光分光光度计 (能测 593nm 处的吸光度)、96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、离心机、制冰机、去离子水、匀浆器。(如果是组织样本)

四、试剂准备

液体试剂均为即用型。

阳性对照：加入 1mL 提取液来溶解，混匀得到母液，分装-20℃可保存一个月，避免反复冻融。然后取 0.1mL 母液加到 0.9mL 提取液中混匀。浓度是 0.1mg/mL，现配现用，当天使用。

工作液的配制：临用前配制，将试剂一、试剂二、试剂三按 10:1:1 的比例混合，现配现用。

标准品：标准品含 10mg 六水合硫酸亚铁铵/每瓶，使用前，每瓶加入 2.55mL 标准品稀释液得 10mM 亚铁母液，母液分装-20℃可保存 3 个月。稀释好的标准品当天使用。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 10mM($\mu\text{mol/mL}$)标准品母液稀释为 4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 $\mu\text{mol/mL}$ 标准溶液 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
标准品 1	80 μL of 10 $\mu\text{mol/mL}$	120	4
标准品 2	100 μL of 标准品 1	100	2
标准品 3	100 μL of 标准品 2	100	1
标准品 4	100 μL of 标准品 3	100	0.5
标准品 5	100 μL of 标准品 4	100	0.25
标准品 6	100 μL of 标准品 5	100	0.125
标准品 7	100 μL of 标准品 6	100	0.0625

 **注意：**每次实验，请使用新配制的标准品。

五、样本制备

动物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，再冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

液体样本：直接检测，若有浑浊离心后取上清，根据预实验确定稀释倍数。

药物：可用提取液配成一定浓度，如 0.5mg/mL。

 **注意：**1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

2. 不能用 EDTA 作为血浆样品的抗凝剂。样品中也不能含有 DTT、巯基乙醇、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。

3. 如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

六、实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 593nm，分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定（在 96 孔板或微量比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	阳性孔 (μL)
去离子水	10	0	0	0
标准品	0	10	0	0

样本	0	0	10	0
阳性对照	0	0	0	10
工作液	190	190	190	190

充分混匀，室温反应 5min，于 593nm 测定吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ； $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ （空白和标准曲线只需做 1-2 次）。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 2.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。若样本有明显颜色，可设置 10 μ L 样本加 190 μ L 试剂一的对照， $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

七、结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入方程计算出 y 值（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。

2. 样本中总抗氧化能力计算：

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 Fe^{2+} 离子浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ）表示。

（1）按样本鲜重计算

$$\text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times n = y \div W \times n$$

（2）按样本蛋白浓度计算

$$\text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol/mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n = y \div \text{Cpr} \times n$$

（3）按细胞或细胞数量计算

$$\text{总抗氧化能力} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cells}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \times n = y \div \text{细胞数量} \times n$$

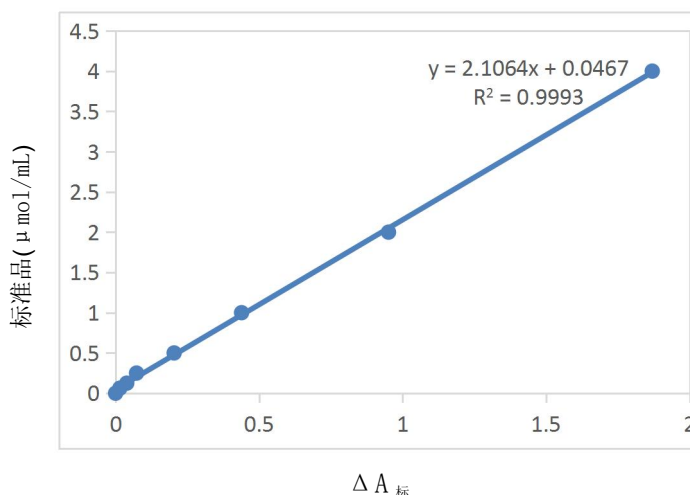
（4）按液体体积计算

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

$V_{\text{样}}$ ：反应中样品体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；W：样品质量，g；n：样本稀释倍数；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞数量：以 10^4 为单位。

结果展示

典型标准曲线



附录：常见问题与解决方案（FAQ）

问题	解决措施
计算时如果选择合适的计算公式？	动物组织及细胞微生物等，可以用质量或者细胞数量计算，也可以建议测蛋白浓度
	植物可建议用质量计算，也可以建议测蛋白
	血液或是其他液态样品，可建议用体积计算
	如客户要购买蛋白含量测定试剂盒，除了说明书强调用考马斯亮蓝法的，通常建议 BCA 法。动植物组织因为蛋白含量高，在 10mg/ml 左右，如果用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度的话通常需要用 PBS 缓冲液等稀释液进行稀释。
测定时如何进行调零？	除说明书中提示用对照管或某种试剂调零外，都用纯水调零。
试剂盒中样本提取时需要 0.1g 组织，我的样品量不够怎么办？	通常可以按比例缩小，如说明书中是约 0.1g 组织加 1ml 提取液，可以等比例缩小，如 0.05g 组织加 0.5ml 提取液提取。后续操作不变。
	对于数量少的样品，一方面可以减少提取液体积，另一方面还可以延长反应时间。

✦ 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

🔗 相关产品：

PMK1036BKM 超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（微量法）

PMK1038BKM 过氧化物酶（POD）检测试剂盒（微量法）

PMK1037BKM 过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

