

## Total Antioxidant Capacity Assay Kit with FRAP method

### 总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(FRAP法) 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL858A	总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(FRAP法) 分光法	48T

#### 产品简介:

在细胞和组织的正常生理代谢过程以及一些环境因子诱导例如紫外照射、 $\gamma$ 射线照射、吸烟、环境污染等都会产生活性氧。活性氧产生后，可以导致细胞内脂、蛋白和 DNA 等的氧化损伤，诱发氧化应激(Oxidative stress)，继而导致各种肿瘤、动脉粥样硬化、风湿性关节炎、糖尿病、肝损伤、以及中枢神经系统疾病等。机体中存在多种抗氧化物，包括抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶等，可以清除体内产生的各种活性氧，以阻止活性氧诱导的氧化应激(oxidative stress)的产生。一个体系内的各种抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶的总的水平即体现了该体系内的总抗氧化能力。

FRAP 法常用于血浆、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、或各种抗氧化物溶液的总抗氧化能力的检测。即在酸性环境下，抗氧化物可以还原  $\text{Fe}^{3+}$ -三吡啶三吡嗪( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ)产生蓝色的  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ，随后在 590nm 测定蓝色的  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ 即可获得样品中的总抗氧化能力。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	45mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	4.5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	4.5mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末 ×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

#### 使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费！

##### 一、样本准备

##### 1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织（若是干样可取 0.02-0.05g），加入 1mL 80%乙醇（自备）进行匀浆，然后转入 2mL 离心管中；
- 60°C，200-300W 条件下超声提取 30min（间隔 5min 振荡混匀一次）；
- 12000rpm，4°C离心 10min，取上清液，置冰上待测。

##### 2. 细菌/细胞样本:

- 收集细菌或细胞到离心管内，离心弃上清；
- 取  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞加入 1mL 80%乙醇（自备）进行匀浆，然后转入 2mL 离心管中；
- 60°C，200-300W 条件下超声提取 30min（间隔 5min 振荡混匀一次）；
- 12000rpm，4°C离心 10min，取上清液，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌或细胞加入 1ml 提取液体积的比例进行提取。

##### 3. 液体样本:

水溶性样本可直接检测。若是油性样本，可用 80%乙醇溶解后再取上清检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



## 二、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 590nm，蒸馏水调零。
2. 显色液配置：将试剂一、试剂二、试剂三按 10:1:1 的比例混合，使用前 37°C 预温，现配现用，注意避光。
3. 不同样本抗氧化能力不一，可先选取 2 个样本做检测，若 A 测定超过 1.8，需对样本用 80% 乙醇稀释，稀释倍数 D 代入公式计算。
4. 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

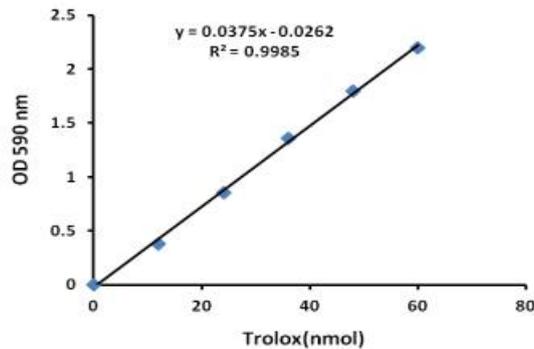
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一次)
样本	75	-
蒸馏水	75	150
显色液	850	850

混匀后，室温 25°C，准确反应 10min，于 590nm 处读取吸光值 A； $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

【注】若  $\Delta A$  的值在零附近，可增加样本量 V1（如增至 15μL，则蒸馏水相应减少），则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

## 三、含量计算

1. 标准曲线：y = 0.0375x - 0.0262。x 是标准品 Trolox 摩尔质量 (nmol)，y 是  $\Delta A$ 。



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。

2. 按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力}(\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0262) \div 0.0375 \times 10^{-3}] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 0.36 \times (\Delta A + 0.0262) \div W \times D \end{aligned}$$

3. 按细菌或细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力}(\text{nmol Trolox}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0262) \div 0.0375] \div (V1 \div V \times 500) \times D \\ &= 0.711 \times (\Delta A + 0.0262) \times D \end{aligned}$$

4. 液体样本计算：

$$\text{总抗氧化能力}(\mu\text{mol Trolox}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0262) \div 0.0375 \times 10^{-3}] \div V1 \times D = 0.36 \times (\Delta A + 0.0262) \times D$$

V---加入提取液体积，1 mL

W---样品质量，g

V1---反应中样品体积，75μL=0.075 mL

Trolox 分子量----250.29

D---稀释倍数，未稀释即为：1

Cpr---样本蛋白浓度，mg/mL

500---细菌/细胞数量，万

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（4μmol/mL=4nmol/μL）：称取 2mg 标准品，加入 2mL 无水乙醇，充分溶解混匀，即 4μmol/mL 标准品，备用。
2. 把母液用提取液稀释成以下浓度梯度的标准品：0,0.16,0.32,0.48,0.64,0.8 nmol/μL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



3. 按照测定管加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线。

**注意事项：**

1. 由于本方法是显蓝色测定吸光值，因此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。
2. 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。
3. 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。
4. 如果样本处理过程中施加了较高浓度的铁盐或亚铁盐，会干扰测定，不宜使用本测试方法。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**

4°C保存六个月。

