

总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒(FRAP 法)

【产品简介】 ◆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 Fe^{3+} -三吡啶三吡啶(Fe³⁺-TPTZ)产生蓝色的 Fe^{2+} -TPTZ，随后在 590nm 测定蓝色的 Fe^{2+} -TPTZ即可获得样品中的总抗氧化能力。

【货号】 TC1008

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃	
试剂二	液体1.5mL×1支	4℃	
试剂三	液体1.5mL×1支	4℃	
标准品	粉剂 mg×1支	4℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本：

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

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL 的80%乙醇(自备)进行匀浆；匀浆后转入2mL离心管中；于60℃，200-300W条件下超声提取30min(超声3S，间隔10S，其中每间隔5min 振荡混匀一次)；12000rpm，离心10min，取上清置冰上待测。

注：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4 个)：提取液(mL)为1000-5000:1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。

2、上机检测：

①酶标仪预热30min 以上，调节波长至590nm。

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℃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1.5,需对样本用80%乙醇稀释,稀释倍数D代入公式计算。

④在96孔板中依次加入:

试剂名称(uL)	测定管	空白管(做一次)
样本	5	0
蒸馏水	25	30
显色液	170	170
混匀后,室温25℃,准确反应10min,于 590nm 处读取吸光值 A; $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$;		

⑤标准曲线结果计算①由标准品测定获得,如需重制见随货说明书或咨询。

3、结果计算:

①标准曲线: $y = 0.0972x + 0.0042$, x是标准品Trolox 质量(nmol), y是 ΔA 。

②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。

③按样本质量计算:

总抗氧化能力($\mu\text{mol Trolox/g鲜重}$) = $[(\Delta A - 0.0042) \div 0.0972 \times 10^{-3}] \div (V1 \div V \times W) \times D = 2.06 \times (\Delta A - 0.0042) \div W \times D$

④按细菌或细胞数量计算:

总抗氧化能力($\text{nmol Trolox}/10^4\text{cell}$) = $[(\Delta A - 0.0042) \div 0.0972] \div (V1 \div V \times 500) \times D = 4.12 \times (\Delta A - 0.0042) \times D$

⑤液体样本:

总抗氧化能力($\mu\text{mol Trolox/mL}$) = $[(\Delta A - 0.0042) \div 0.0972 \times 10^{-3}] \div V1 \times D = 2.06 \times (\Delta A - 0.0042) \times D$

V--加入提取液体积, 1mL; V1--反应中样品体积, 5 μL =0.005 mL;

W--样品质量, g; Trolox分子量---250.29;

D--稀释倍数, 未稀释即为 1; 500--细菌或细胞总数, 万。

【注意事项】

- 1、样品中不宜添加去垢剂和影响氧化还原的还原剂
- 2、不宜添加蓝色试剂, 产生干扰
- 3、样品的吸光值应该在标准曲线内, 超出应当稀释或者浓缩。
- 4、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。
- 5、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

