

总抗氧化能力测定试剂盒

可见分光光度法

注意：正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

货号：BC1310

规格：50T/48S

产品内容：

提取液：液体50mL×1瓶，4℃保存，使用前预冷。

试剂一：液体35mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体20mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂三：液体5mL×1瓶，4℃避光保存。

标准品：粉剂×1支，10mgFeSO₄·7H₂O，4℃保存。临用前加入1.75ml 蒸馏水，滴加1滴浓硫酸，制备20μmol/mL FeSO₄标准溶液。

混合液(现配现用)：将试剂一、试剂二、试剂三按7:1:1的比例混合，使用前预温至37℃。

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、医学和药理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：

可见分光光度计、恒温水浴锅、低温离心机、1mL玻璃比色皿和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品的制备：

(1) 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℃冻存（不宜超过30d）后再测定。

(2) 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℃、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20μmol/mL FeSO₄标准溶液稀释至0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156μmol/mL，分别取500μL标准溶液（蒸馏水作空白）加入500μL试剂二，充分混匀，反应10min，双蒸水调零，1cm光径，测定A₅₉₃，计算ΔA=A标准-A空白，此时Fe²⁺终浓度为0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0.00156、0.00078μmol/mL。

2、分光光度计预热30min以上，调节波长至593nm，蒸馏水调零。

3、操作表

	空白管	测定管
混合液（μL）	900μL	900μL

样品 (μL)		30μL
双蒸水 (μL)	120μL	90μL
充分混匀，反应10min，双蒸水调零，1cm光径，测定A ₅₉₃ ，计算ΔA'=A测定-A空白管。（注：空白管只需测定一次）		

三、总抗氧化能力计算

1、标准曲线绘制

以Fe²⁺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ΔA'带入方程求得x(μmol/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。

(1) 按蛋白浓度计算

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

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

(3) 按细胞数量计算

总抗氧化能力 (U/10⁴cell) = $x \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = 34 \times x \div \text{细胞数量}$

(4) 按液体体积计算

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

V_{样总}：加入提取液体积，1 mL；V_{反总}：反应总体积，1.02mL；V_样：反应中样品体积，0.03mL；W：样品质量，g；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞数量：以10⁴为单位，万个。

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本，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。