

Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit, Colorimetric method 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒, 比色法

产品简介

抗氧化能力的强弱与健康状态存在着密切联系, 机体防御体系有酶促与非酶促两个体系, 许多酶是以微量元素为活性中心, 例如: 超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽 S-转移酶等, 非酶促反应体系中主要为维生素、氨基酸和金属蛋白质等。抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶的总水平可体现体系内的总抗氧化能力, 因此测定血浆、血清、尿液、唾液等各种体液, 细胞或组织等裂解液中的总抗氧化能力具有非常重要的生物学意义。

该试剂盒用于测定样本中的总抗氧化能力 (T-AOC), 适用于血浆、血清、唾液、尿液等各种体液, 细胞或组织裂解液、植物或中草药提取物以及各种抗氧化物溶液, 作用原理基于机体中有许多抗氧化物质, 能使 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , 后者可与菲啉类物质形成稳固的络合物, 通过比色可测出其抗氧化能力的高低。

产品信息

货号	60742ES50
规格	50T

组分信息

组分编号	组分名称	规格	储存条件	备注
60742-A	试剂一	60 mL	2~8°C	Part 1
60742-B	试剂二	粉剂×1 支	2~8°C	
60742-C	试剂三	3 mL+30 mL	2~8°C, 避光保存	
60742-D	试剂四	12 mL	室温	Part 2
60742-E	试剂五	12 mL	室温, 如凝固, 需溶解至澄清透亮后使用	

储存条件

2~8°C 避光保存, 有效期 6 个月。

使用说明

【注: 正式测定前建议取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定, 且本试剂盒不建议使用酶标仪读数。】

1 准备仪器与试剂

分光光度计 (520 nm)、1 cm 光径比色皿、37°C 恒温水浴锅、台式低速离心机、移液器、双蒸水、生理盐水 (0.9%) 或 PBS (0.1 M)、涡旋混匀器、离心管。

2 试剂的前处理

- 1) 试剂二的处理: 加双蒸水 120 mL 充分溶解, 如需加快溶解, 可以在 37°C 水浴溶解, 配成试剂二应用液。
- 2) 试剂三的处理: 3 mL 的贮备液与 30 mL 的稀释液按 1:9 的比例, 现用现配, 配成试剂三应用液。

3 样品的前处理

1) 血浆样本的前处理

血浆在测试前 3500 转 / 分, 离心 10 分钟, 取上清待测; 肝素抗凝的血浆、血清不需要离心。

2) 组织样本的前处理

准确称取组织重量，按重量(g):体积(mL)=1:9的比例，加入9倍体积的生理盐水，冰水浴条件下，制备成10%的匀浆液，2500转/分，离心10分钟，取上清液待测（同时需要测定匀浆蛋白浓度，推荐使用2020ES）。

3) 细胞样本的前处理

将培养细胞消化，离心，弃上清，留下层细胞，用生理盐水或匀浆介质制备成 $10^7/cm^3$ 的悬液，即 $10^7/mL$ 的悬液，再进行破碎，制备好的细胞悬液不需要离心，在测试加样前要摇匀后取样。【破碎细胞的方法：①匀浆器匀浆。②超声粉碎机粉碎。

③反复冻溶3次。】

4) 培养细胞的上清及部分体液均可以按照血清样本处理，一般直接加样。

5) 全血样本前处理：一般用双蒸水10倍稀释。

4 操作步骤

1) 调节波长：分光光度计（比色测定波长为520 nm）。

2) 血清(浆)中T-AOC的测定

试剂	测定管 (mL)	对照管 (mL)
试剂一	1.0	1.0
血清(浆)	0.1	
试剂二应用液	2.0	2.0
试剂三应用液	0.5	0.5
旋涡混匀器充分混匀，37°C水浴30分钟。		
试剂五	0.1	0.1
血清(浆)		0.1
混匀，25~37°C放置10分钟，波长520 nm，1 cm光径，双蒸水调零，测定各管吸光度值。		

单位定义及计算公式：

定义：在37°C时，每分钟每毫升血清（浆）使反应体系的吸光度（OD）值每增加0.01时，为一个总抗氧化能力单位（U）。

计算公式：

$$\text{总抗氧化能力 (U/mL)} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div 0.01 \div T \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times N$$

T：反应时间，30 min；V反总：反应体系总体积，mL；V样：取样量，mL；N：样本测试前稀释倍数。

3) 组织中T-AOC的测定

试剂	测定管 (mL)	对照管 (mL)
试剂一	1.0	1.0
待测样本	10%组织匀浆参考取样量：0.1~0.2 mL	
试剂二应用液	2.0	2.0
试剂三应用液	0.5	0.5
旋涡混匀器充分混匀，37°C水浴30分钟。		
试剂四	0.2	0.2
待测样本	10%组织匀浆参考取样量：0.1~0.2 mL	
试剂五	0.2	0.2
混匀，25~37°C放置10分钟，波长520 nm，1 cm光径，双蒸水调零，测定各管吸光度值。		

定义：在37°C时，每分钟每毫克组织蛋白，使反应体系的吸光度（OD）值，每增加0.01时，为一个总抗氧化能力单位（U）。

计算公式：

$$\text{总抗氧化能力 (U/mgprot)} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div 0.01 \div T \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div C_{\text{pr}}$$

T: 反应时间, 30 min; V 反总: 反应体系总体积, mL; V 样: 取样量, mL; Cpr: 组织匀浆蛋白浓度, mgprot/mL (prot 指蛋白)。

4) 全血中 T-AOC 的测定

试剂	测定管 (mL)	对照管 (mL)
试剂一	1.0	1.0
待测样本	0.05	
试剂二应用液	2.0	2.0
试剂三应用液	0.5	0.5
旋涡混匀器充分混匀, 37°C水浴 30 分钟。		
试剂四	0.1	0.1
待测样本		0.05
混匀, 25~37°C放置 10 分钟, 波长 520 nm, 1 cm 光径, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值。		

定义: 在 37°C时, 每分钟每毫升全血, 使反应体系的吸光度 (OD) 值每增加 0.01 时, 为一个总抗氧化能力单位 (U)。

计算公式:

$$\text{总抗氧化能力 (U/mL)} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \div 0.01 \div T \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times N$$

T: 反应时间, 30 min; V 反总: 反应体系总体积, mL; V 样: 取样量, mL; N: 样本测试前稀释倍数。

5) 简单操作法

a 混合试剂的配制: 试剂一: 试剂二: 试剂三 = 1:2:0.5 的比例进行配制, 现用现配 (最好配完即用, 剩余的丢弃)

b 血清 (浆)、全血简便操作表:

试剂	对照管 (mL)	测定管 (mL)
待测样本		0.1
混合试剂	3.5	3.5
旋涡混匀器充分混匀, 37°C水浴 30 分钟。		
试剂四	0.1	0.1
待测样本	0.1	
混匀, 25~37°C放置 10 分钟, 波长 520 nm, 1 cm 光径, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值。		

c 组织样本简便操作表:

试剂	对照管 (mL)	测定管 (mL)
组织匀浆		10%组织匀浆参考取样量: 0.1~0.2 mL
混合试剂	3.5	3.5
旋涡混匀器充分混匀, 37°C水浴 30 分钟。		
试剂四	0.2	0.2
组织匀浆	10%组织匀浆参考取样量: 0.1~0.2 mL	
试剂五	0.2	0.2
混匀, 25~37°C放置 10 分钟, 波长 520 nm, 1 cm 光径, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值。		

注意事项

1. 不建议使用酶标仪读数。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

3. 本产品仅作科研用途!