

总抗氧化能力 (FRAP 法) 试剂盒说明书

微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

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。

测定原理:

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 的能力反映了总抗氧化能力。

组成:

产品名称	AO037-100T/96S	Storage
提取液: 液体	120ml	4°C
试剂一: 液体	20ml	4°C避光
试剂二: 液体	2ml	4°C避光
试剂三: 液体	2ml	4°C避光
说明书	一份	

混合液(现配现用): 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。

自备仪器和用品:

酶标仪、低温台式离心机、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

样品的制备:

(1) 血清、血浆、唾液或尿液等液体样品

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) 4°C, 5000rpm 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°C冻存(不宜超过 30 d)后再测定。

(2) 组织样品

按照组织质量(g): 提取液体积(ml)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1ml 提取液)进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

(3) 细胞样品

最终解释权所有 © 伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司, 保留一切权利



按照细胞数量 (10⁴ 个) : 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1ml 提取液), 冰浴超声波破碎 (功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 10000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 593nm。
- 2、样本测定

试剂名称 (μl)	空白管	测定管
样品		10
提取液	10	
混合液	190	190
充分混匀, 反应 20min, 于 96 孔板, 测定 593nm 吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$		

总抗氧化能力计算公式:

标准曲线: $y = 1.2416x + 0.0134$ $R^2 = 0.9996$ x: Trolox 浓度(μmol/ml)
y: 吸光值差值 ΔA

单位定义: 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。

(1) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) &= (\Delta A - 0.0134) \div 1.2416 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 0.8054 \times (\Delta A - 0.0134) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/mg prot}) &= (\Delta A - 0.0134) \div 1.2416 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{Cpr}) \\ &= 0.8054 \times (\Delta A - 0.0134) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(3) 按细胞计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox}/10^4 \text{cell}) &= (\Delta A - 0.0134) \div 1.2416 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \\ &= 0.8054 \times (\Delta A - 0.0134) \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/ml}) &= (\Delta A - 0.0134) \div 1.2416 \\ &= 0.8054 \times (\Delta A - 0.0134) \end{aligned}$$

V_{样总}: 加入提取液体积, 1 ml; V_样: 反应中样品体积, 10μL; W: 样品质量, g;

Cpr: 样本蛋白浓度, mg/ml

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试剂, 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

