

总抗氧化能力（T-AOC）检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHG8-M48	总抗氧化能力（T-AOC）检测试剂盒	48T	微量法
PMHG8-M96		96T	

一、测定意义：

总抗氧化能力是指各种抗氧化物质和抗氧化酶等构成的总抗氧化水平，如抗氧化物酶、维生素 C、维生素 E 和胡萝卜素等，为保护细胞和机体免于活性氧自由基造成的氧化应激损伤。通过检测血浆、唾液、尿液等体液、细胞或组织等裂解液、植物或中草药等抽提液及各种抗氧化物溶液的总抗氧化能力，对全面科学地评价抗氧化物质的抗氧化能力具有重要意义。

二、测定原理：

酸性条件下抗氧化物能够将 Fe^{3+} -TPTZ 还原为蓝色的络合物 Fe^{2+} -TPTZ，产物在 593 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化可以反映待测样品的还原能力，即样品的总抗氧化能力。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 1mL×1 瓶	液体 2mL×1 瓶	2-8℃避光保存
试剂三	液体 1mL×1 瓶	液体 2mL×1 瓶	2-8℃避光保存
工作液的配置：将试剂一、试剂二、试剂三按 10: 1: 1 比例混合均匀，避光 37℃保温 5min，现用现配。			
标准品 (27.8mg)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
标准液的配制：使用前加入 1mL 蒸馏水混合溶解，配制成 100μmol/mL 标准液备用。			

四、操作步骤：

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至593nm，蒸馏水调零；
2. 测定前将100mmol/L标准品用提取液稀释成1.5、1.2、0.9、0.6、0.3、0.15μmol/mL 标准液备用；
3. 操作表（在96孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样品（μL）	20	-	-
标准液（μL）	-	20	-

提取液 (μL)	-	-	20
工作液 (μL)	180	180	180
充分混匀, 37℃避光反应 30 min, 测定 593 nm 处吸光值, 记为 A _{测定} 、A _{空白} 、A _{标准} , 计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注: 标曲和空白管只需测定 1-2 次。			

五、总抗氧化能力 (T-AOC) 计算:

1、以不同浓度标准液浓度为横坐标 (x, μmol/mL), 以其对应吸光值为纵坐标 (y, $\Delta A_{标准}$), 绘制拟合曲线, 即可得到线性方程 $y=kx+b$, 将样本吸光值 ($\Delta A_{测定}$) 带入公式中得到 x (μmol/mL)。

2、总抗氧化能力 (T-AOC) 计算:

单位定义: 样品总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) 按组织蛋白浓度计算

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol/mg prot}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按组织样本质量计算:

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol/g}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = x \div W$$

$V_{\text{样总}}$: 待测样本总体积, 1 mL; $V_{\text{反应总}}$: 反应体系总体积, 0.2 mL; $V_{\text{样}}$: 反应体系中加入待测样本的体积, 0.02 mL; W: 样品质量, g; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL;

六、 注意事项:

- 1、试剂二具有刺激性应避免接触, 注意采取适当的防护措施, 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 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、若测定吸光值超出标准线性吸光值范围: 高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定, 低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定, 计算时相应修改;
- 5、为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。