

总抗氧化能力 (T-AOC) -FRAP 法检测试剂盒说明书

货号: RX900W96 规格: 96 样 方法: 酶标仪法

一、注意事项

1. 正式检测前选取 2~3 个样本上清进行预检测。
2. 本试剂盒仅用于科研。
3. 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。
4. 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。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	110 mL×1	4°C	使用前预冷
试剂一	18 mL×1	4°C避光	
试剂二	1.7 mL×1	4°C避光	
试剂三	1.7 mL×1	4°C避光	

工作液: 临用前, 根据用量将试剂一: 试剂二: 试剂三按 10: 1: 1 的体积比混合, 即为工作液。工作液需避光、37°C水浴预热 5 min。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 植物、动物组织: 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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 进行冰浴匀浆, 然后, 10000 g, 4°C, 离心 10 min, 置于冰上, 上清为待测样本。
2. 细菌、真菌: 按照细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 200 w, 超声 3 秒, 间隔 10 秒, 重复 30 次); 然后 10000g, 4°C, 离心 10 min, 置于冰上, 上清为待测样本。
3. 血清、培养液等液体: 直接测定。

五、测定步骤:

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 593 nm 处。

2.在 96 孔板中依次加入:

注意: 正式实验开始前，取 2~3 个预期差异较大的样品上清液进行预实验。若测定管吸光度值大于 2.5，需用提取液将上清进行稀释再进行测定。

	测定管	空白管
样本 (μL)	10	-
蒸馏水 (μL)	-	10
工作液 (μL)	190	190

充分混匀后，常温反应 20 min，测定 A593，记 A 测定、A 空白， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管只需测定 2~3 管。

六、计算:

标准方程

标准条件下测得回归方程为 $y = 1.4458x + 0.0131$ ， $R^2 = 0.9997$ ，x 为标准品浓度 (μmol/mL)，y 为吸光值 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. 按照样本质量计算:

总抗氧化能力 (μmol Trolox/g 鲜重) = $(\Delta A - 0.0131) \div 1.4458 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 0.6917 \times (\Delta A - 0.0131) \div W$

2. 按照蛋白质浓度计算 (需另测蛋白浓度):

总抗氧化能力 (μmol Trolox/mg prot) = $(\Delta A - 0.0131) \div 1.4458 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) = 0.6917 \times (\Delta A - 0.0131) \div C_{\text{pr}}$

3. 按细胞计算:

总抗氧化能力 (μmol Trolox/10⁴ cell) = $(\Delta A - 0.0131) \div 1.4458 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = 0.6917 \times (\Delta A - 0.0131) \div \text{细胞数量 (万个)}$

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; V 样: 反应中样品体积, 10 μL; W: 样品质量, g; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL

七、产品简介

FRAP（铁离子还原抗氧化能力）是一种用于测定样品总抗氧化能力的经典方法。该方法通过检测样品将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的能力来评估其抗氧化活性。