# 总抗氧化能力(T-AOC)-FRAP 法检测试剂盒说明书

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 个样本进行预检测。

2.本试剂盒仅用于科研。

## 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℃ | 使用前预冷 |
| 试剂一 | 10 mL×2 | 4℃避光 | |
| 试剂二 | 2 mL×1 | 4℃避光 | |
| 试剂三 | 2 mL×1 | 4℃避光 | |
| 标准品 | 粉剂×1 | 4℃ | 1 μmol/mL Trolox，如需重新做标曲则用到该试剂。 |

**工作液：**临用前，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。避光、37℃水浴预热。

## 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

样品中可溶性蛋白质提取：

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℃，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℃，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：

| | 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，ΔA=A 测定-A 空白。 | | |

**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 A。

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）=(ΔA-0.0131)÷1.4458×V 样÷(V 样÷V 样总×W）=0.6917×(ΔA-0.0131)÷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）=(ΔA-0.0131)÷1.4458×V 样÷(V 样÷V 样总×Cpr）=0.6917×(ΔA-0.0131)÷Cpr

3. 按细胞计算：

总抗氧化能力（μmol Trolox/$10^4$cell）=(ΔA-0.0131)÷1.4458×V 样÷(V 样÷V 样总×细胞数量）=0.6917×(ΔA-0.0131)÷细胞数量

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。