总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒

分光光度法(ABTS法)

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使用说明书

货号：JL-T1386　　**有 效 期：**6 个月

规格：50T(42S)/100T(92S)　　**保存温度：**2-8℃

实验原理：

ABTS 法是使用最广泛的间接检测方法，可用于亲水性和亲脂性物质抗氧化能力测定。ABTS 经氧化后生成稳定的蓝绿色阳离子自由基 $ABTS^+$，能溶于水相或酸性乙醇介质中，其最大吸收波长为 734nm。被测物质加入 $ABTS^+$溶液后，所含抗氧化成分能与 $ABTS^+$发生反应从而使反应体系褪色。通过测定 734nm 下降计算清除率，并以 Trolox 作为对照体系中抗氧化物质总抗氧化能力的参考。本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：JL-T0336）。

检测范围：0.047-1.5mmol/L　　灵敏度：0.047mmol/L

注意事项：

1. 尽量避免使用在中碱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。
2. 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。
3. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
4. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
5. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。

6. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成：

试剂名称	规格（50T/42S）	规格（100T/92S）	保存条件
提取液	100mL×1 瓶	100mL×2 瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2 瓶	粉剂×4 瓶	2-8℃，避光
试剂二	粉剂×2 瓶	粉剂×4 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、分光光度计、比色皿、可调式移液器、无水乙醇、蒸馏水。

样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.047-1.5mmol/L，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。样本稀释液为提取液。

2. **血清、血浆、唾液、尿液等液体：**血浆 4℃，5000 g 离心 10min，取上清待测（血浆制备时建议使用肝素或柠檬酸钠抗凝，不宜使用 EDTA）。血清、唾液、尿液等可直接进行测定。

3. **组织匀浆：**按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例(例如约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆，充分破碎；离心机 4℃，10000 g，10min，取上清，置冰上待测。

4. **细胞样本：**按照细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为 500～1000：1 的比例（例如 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）；离心机 4℃，10000 g，10min，取上清，置冰上待测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。

2. **制备标准品母液**（5mmol/L）：取一管标准品即 Trolox，加 1.6mL 乙醇充分溶解，即 5mmol/L 标准品母液，备用。

3. **标准工作液配置：**把母液按下表用对应量的无水乙醇稀释成以下浓度的标准品工作液：1mmol/L、0.8mmol/L、0.6mmol/L、0.4mmol/L、0.3mmol/L、0.2mmol/L、0.1mmol/L。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
标准品浓度(mmol/L)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0
5mmol/L 标准品(μL)	4	8	12	16	24	32	40
无水乙醇(μL)	196	192	188	184	176	168	160

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用无水乙醇稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

4. **工作液的配置**：取 25ml 提取液加入试剂一中进行溶解，后吸取 1ml 已溶解的试剂一加入试剂二管中简单混匀，后吸出全部液体加入试剂一瓶中进行混合，此步骤反复 3-5 次。将混合后的工作液震荡混匀 30min 以上，静置或者离心 5min 后取上清，待用。工作液现配现用。

操作步骤：

1. **分光光度计预热 30min，调节波长至 734nm，蒸馏水调零。**

2. **样本测定（在 EP 管中依次加入）**

试剂名称(μL)	空白管	标准管	测定管
提取液	50		
样品			50
标准品		50	
工作液	950	950	950
充分混匀，10min 内测定各管 734nm 吸光值。			

注：空白管和标准管只需测定 1-2 次。

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：** y=ax+b

2. 血清（浆）等液体样本总抗氧化能力计算公式：

$$T\text{-}AOC(mmol/L)=(\triangle A-b)\div a\times N$$

3. 组织样本总抗氧化能力计算公式：

$$T\text{-}AOC(mmol/kg\ wet\ weight)=(\triangle A-b)\div a\times N\div W$$

4. 细胞总抗氧化能力计算公式：

$$T\text{-}AOC(mmol/gprot)=(\triangle A-b)\div a\times N\div Cpr$$

注：

y：空白管 OD 值-标准管 OD 值

△A：空白管 OD 值-测定管 OD 值

x：标准品的浓度

N：样本稀释倍数

a：标曲的斜率

W：组织湿重质量，g

b：标曲的截距

Cpr：待测样本的蛋白浓度，mg/mL

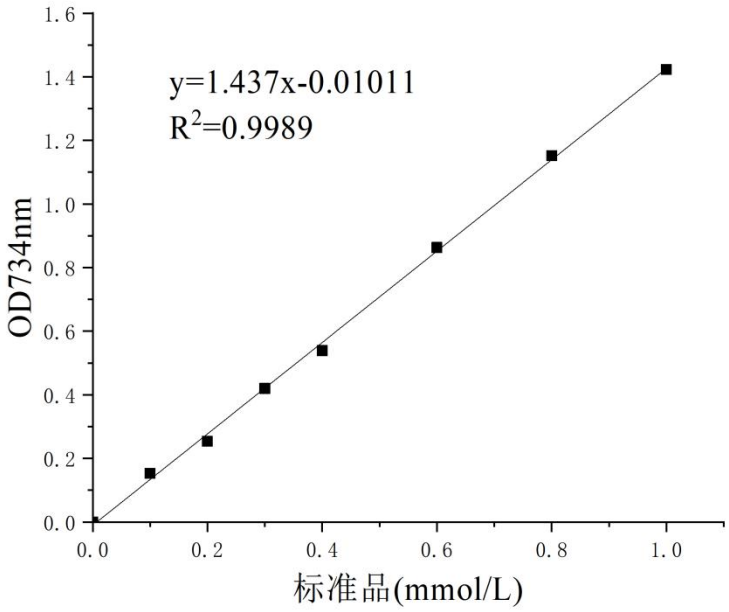
参考样本数据：

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
人血清	2 倍	1.37mmol/L

参考曲线：

y =1.437x-0.01011，R^2=0.9989，x 是标准品的浓度(mmol/L)，y 是△A。



Note:

Note:

咨询电话：400-0066-400

传　　真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网　　址：www.jonln.com