

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

总抗氧化能力测定试剂盒(FRAP 法) Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit (FRAP Method)

产品货号: BC00019

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	总抗氧化能力测定试剂盒(FRAP 法)
产品英文名称	Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit (FRAP Method)
检测方法	Colorimetric
样品类型	组织、细胞、血清、血浆、唾液、尿液、植物或中草药抽提液
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪（585-605 nm，最佳检测波长 593nm）
检测范围	0.0625-2mM
灵敏度	0.05mM

产品简介

活性氧(Reactive oxygen species, ROS)主要包括羟基自由基、超氧自由基和过氧化氢。在细胞或组织的正常生理代谢过程中会产生活性氧，同时一些环境因子例如紫外照射、γ射线照射、吸烟、环境污染等也可以诱导活性氧的产生。活性氧产生后，可以导致细胞内脂、蛋白和 DNA 等的氧化损伤，诱发氧化应激(Oxidative stress)，继而导致各种肿瘤、动脉粥样硬化、风湿性关节炎、糖尿病、肝损伤、以及中枢神经系统疾病等。

机体中存在多种抗氧化物，包括抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶等，可以清除体内产生的各种活性氧，以阻止活性氧诱导的氧化应激(oxidative stress)的产生。一个体系内的各种抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶的总的水平即体现了该体系内的总抗氧化能力。因此测定血浆、血清、尿液、唾液等各种体液，细胞或组织等裂解液中的总抗氧化能力具有非常重要的生物学意义。

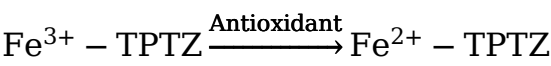
植物或中草药抽提液、或各种抗氧化物溶液的总抗氧化能力的检测可以用于检测各种溶液的抗氧化能力的强弱，可以用于筛选强抗氧化能力的药物。

产品特点

★ 本试剂盒方便快捷，加入待测样品后 3-5 分钟即可进行吸光度测定，通常 10-20 个样品可以在十多分钟内检测完毕。

检测原理

酸性条件下抗氧化物可以还原 Ferric-tripyridyltriazine (Fe³⁺-TPTZ)产生蓝色的 Fe²⁺-TPTZ，随后在 593 nm 测定蓝色的 Fe²⁺-TPTZ 即可获得样品中的总抗氧化能力。由于反应在酸性条件下进行，可以抑制内源性的一些干扰因素。并且由于血浆等样品中的铁离子或亚铁离子的总浓度通常低于 10 μM，因此血浆等样品中的铁离子或亚铁离子不会显著干扰 FRAP 法的检测反应。由于反应体系中的铁离子或亚铁离子是和 TPTZ 螯合的，样品本身含有的少量金属离子螯合剂通常也不会显著影响检测反应。



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	检测缓冲液	20 mL	-20℃，开瓶后可 2-8℃保存。
试剂二	基质液	1ml/支，两支	-20℃，避光保存，开瓶后可 2-8℃保存。
试剂三	底物液	1ml/支，两支	-20℃，避光保存，开瓶后可 2-8℃保存。
试剂四	FeSO ₄ ·7H ₂ O 标准品	100 mg	-20℃，开瓶后可 2-8℃保存。
耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20°C 保存 12 个月，开瓶使用后可在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存 6 个月。

实验前准备

• 样品处理

1. 血清血浆等液体样本：可直接测定。
2. 组织或细胞样本：匀浆介质是 PBS (0.01 M , $\text{pH } 7.4$)，匀浆离心后取上清进行测定，留取部分上清测蛋白。
3. 样本的稀释：在正式检测前，可选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验。根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围： $0.0625-2\text{ mmol/L}$ 选定稀释倍数。

• 试剂盒的准备工作

1. 试剂盒中的试剂平衡至室温。
2. FRAP 工作液的配制。按试剂一：试剂二：试剂三为 10:1:1 的体积比混匀，现配现用，2 小时内用完。
3. 100 mmol/L 硫酸亚铁溶液的配制。用电子天平精确称取试剂四 27.8 mg ，加双蒸水 1 mL 溶解混匀即可。该试剂必须现用现配，硫酸亚铁溶液容易氧化产生三价铁盐，使溶液的颜色从最初的淡绿色逐渐转变为浅黄色。如果发现溶液的颜色已经呈现明显的黄色，弃之，重新配制。
4. 不同浓度标准品的稀释。先将 100 mmol/L 硫酸亚铁用双蒸水稀释至 2 mmol/L ，再用双蒸水按照对半稀释法，稀释成不同浓度如 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0（空白孔） mmol/L 。

操作流程

1. 标准孔: 取 5μL 不同浓度的标准品, 加入到对应的酶标板孔; 测定孔: 取 5μL 待测样本, 加入到对应的酶标板孔。
2. 向步骤(1)中的各孔加入 180 μL FRAP 工作液。
3. 37℃孵育 3-5 min, 酶标仪 593nm, 测定 OD 值。

注: 试剂加入酶标孔时, 应触酶标板底加入; 加样要慢, 避免产生气泡 (气泡影响测定结果)。

操作表如下:

	标准管 (孔)	测定管 (孔)	空白管 (孔)
不同浓度硫酸亚铁(μL)	5	--	--
双蒸水(μL)	--	--	5
待测样本(μL)	--	5	--
FRAP 工作液(μL)	180	180	180
37℃孵育 3-5 min, 酶标仪 593 nm, 测定 OD 值。			

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清 (浆) 等液体样本总抗氧化能力计算公式:

$$\text{T-AOC (mmol/L)} = (\Delta A_{593} - b) \div a \times f$$

组织、细胞总抗氧化能力计算公式:

$$\text{T-AOC (mmol/gprot)} = (\Delta A_{593} - b) \div a \times f \div C_{pr}$$

y: 标准 OD 值-空白 OD 值

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

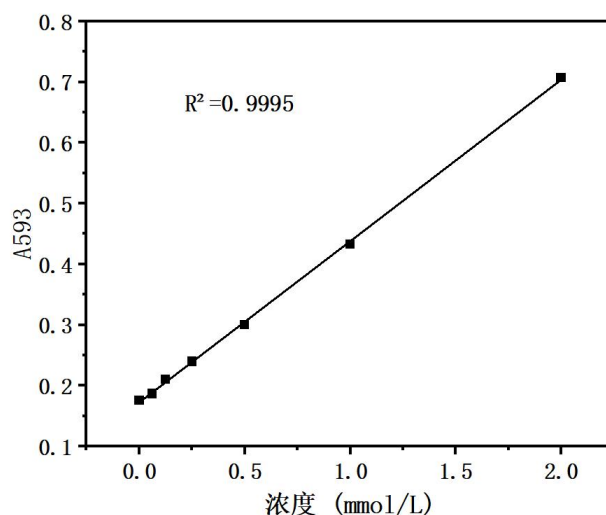
b: 标曲的截距

ΔA_{593} : 样本 OD 值-空白 OD 值

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度 (gprot/L)

以下标准曲线仅供参考:



注意事项

1. 在酸性条件下呈蓝色或接近蓝色的试剂会对本试剂盒的检测产生干扰, 需尽量避免。
2. 如果样品中含有外加的较高浓度的铁盐或亚铁盐, 会干扰测定。但血浆、血清、细胞或组织裂解液等样品中含有的微量的铁盐或亚铁盐不会干扰测定。
3. 样品中不能添加 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的物质, 也不宜添加 Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂。
4. 测定时需可以测定 A593 的酶标仪一台(测 585-605nm 也可以)或可以测定微量样品的分光光度计一台。
5. TPTZ 对人体有刺激性, 操作时请小心, 并注意适当防护以避免直接接触人体或吸入体内。

6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。