



## 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 200w, 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  $\Delta A$ 。

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：

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

#### 2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

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

#### 3. 按细胞计算：

$$\text{总抗氧化能力 (}\mu\text{mol Trolox}/10^4 \text{ cell)} = (\Delta A - 0.0131) \div 1.4458 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = 0.6917 \times (\Delta A - 0.0131) \div \text{细胞数量 (万个)}$$

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  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$  的能力来评估其抗氧化活性。