

## 总抗氧化能力 (FRAP 法) 试剂盒说明书

### 分光光度法 50T/48S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义:

测定对象中各种抗氧化物质和抗氧化酶等构成总抗氧化水平。在生物学、医学和药学研究中常常检测血浆、血清、唾液、尿液等各种体液, 细胞或组织等裂解液、植物或中草药抽提液及各种抗氧化物(antioxidant)溶液的总抗氧化能力。

#### 测定原理:

在酸性环境下, 抗氧化物质还原  $Fe^{3+}$ -三吡啶三吡嗪( $Fe^{3+}$ -TPTZ)产生蓝色的  $Fe^{2+}$ -TPTZ 的能力反映了总抗氧化能力。

#### 组成:

产品名称	AO039-50T/48S	Storage
提取液: 液体	60ml	4°C
试剂一: 液体	50ml	4°C避光
试剂二: 液体	5ml	4°C避光
试剂三: 液体	5ml	4°C避光
说明书	一份	

混合液(现配现用): 将试剂一、试剂二、试剂三按 10:1:1 的比例混合, 使用前 37°C预温。

#### 自备仪器和用品:

分光光度计、低温台式离心机、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

#### 样品的制备:

##### (1) 血清、血浆、唾液或尿液等液体样品

血浆(制备时可以使用肝素或柠檬酸钠抗凝, 不宜使用 EDTA 抗凝) 4°C, 5000rpm 离心 10min, 取上清待测。血清、唾液或尿液样品直接用于测定, 也可以-80°C冻存(不宜超过 30 d)后再测定。

##### (2) 组织样品

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 0.1g 组织, 加入 1ml 提取液)进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

##### (3) 细胞样品

最终解释权所有 © 伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司, 保留一切权利



按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 个) : 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 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); 10000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

**测定步骤:**

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 593nm。
- 2、样本测定

试剂名称 (μl)	空白管	测定管
样品		50
提取液	50	
混合液	950	950

充分混匀, 反应 20min, 于 1ml 玻璃比色皿, 测定 593nm 吸光值,  $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$

注意: 空白管只需测定一次, 若测定管吸光值大于 2 则需要用提取液稀释。

**总抗氧化能力计算公式:**

标准曲线:  $y = 2.4832x + 0.0134$   $R^2 = 0.9996$  x: Trolox 浓度(μmol/mL)  
y: 吸光值差值  $\Delta A$

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) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) &= (\Delta A - 0.0134) \div 2.4832 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 0.4027 \times (\Delta A - 0.0134) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/mg prot}) &= (\Delta A - 0.0134) \div 2.4832 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 0.4027 \times (\Delta A - 0.0134) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

(3) 按细胞计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox}/10^4 \text{cell}) &= (\Delta A - 0.0134) \div 2.4832 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \\ &= 0.4027 \times (\Delta A - 0.0134) \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/mL}) &= (\Delta A - 0.0134) \div 2.4832 \\ &= 0.4027 \times (\Delta A - 0.0134) \end{aligned}$$

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; V 样: 反应中样品体积, 50μL; W: 样品质量, g;  
Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL

**注意事项:**

1. 试剂二对人体有刺激性, 请采取适当的防护措施。为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴乳胶手套操作。
2. 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。
3. 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。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利

