总抗氧化能力（T-AOC）检测试剂盒（快速）

检测意义及原理：

总抗氧化能力（Total Antioxidant Capacity，T-AOC）是衡量机体内酶系统、小分子物质及蛋白质等抗氧化成分综合能力的指标，通过清除自由基、阻断氧化应激等氧化链式反应机制从而保护机体免受氧化损伤。在生物体中，氧化应激和抗氧化能力的平衡对于维持正常的生理功能至关重要。抗氧化系统包括抗氧化剂（如维生素 C、维生素 E、谷胱甘肽、类胡萝卜素、黄酮类等）和抗氧化酶（如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等）。T-AOC 检测通过评估样品中抗氧化剂及抗氧化酶的总能力来反映其应对氧化应激的整体潜力。T-AOC 的检测广泛应用于生物医学、营养学、食品科学、药物研发及环境毒理学等领域。

本试剂盒采用可见光比色法在酶标板上操作，标准品和待测样品中的抗氧化物质与显色液发生反应，导致显色液在 431 和 723nm 处的特征性吸收峰降低，抗氧化能力与此 OD 值降低成正比；以常用的抗氧化物质 Trolox 的 OD 值降低做标准对照，可通过绘制标准曲线求出样品的总抗氧化能力。

试剂盒特点：

1. **线性范围宽**：本试剂盒采用最新配方，可以检测到 0.1～5mmol/L 范围内的 Trolox 当量的总抗氧化能力。
2. **特异性强**：本试剂盒基于最新科研成果研发，具有对总抗氧化能力的检测高度专一、不受其他因素影响。
3. **简单快速**：室温条件，45min 内即可完成。
4. **大通量操作**：本试剂盒反应敏感度适中，实验结果稳定，不会出现因为 2～3min 之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本，从而提升实验效率。

试剂盒组分：（保存：-20℃避光，有效期：12 个月）

名　　称	规格（48 T）	规格（96 T）
微孔板	8×6 条	8×12 条
标准品（5mmol/L ）	1mL	1mL
提取液	50mL	100mL
缓冲液	10mL	20mL
催化液	300μL	600μL

底物液	250μL	500μL
反应液	150μL	300μL
产品说明书	1 份	1 份

本试剂盒适用于血清、血浆、脑脊液、尿液、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

需要自备试剂和器材：

1. 酶标仪、离心机、移液器、天平、制冰机及实验室常规仪器。
2. 多种规格单通道移液器或 8 通道移液器。
3. 不同规格的试管和离心管，加样槽。
4. 漩涡混匀器。
5. 去离子水或蒸馏水。

标本收集：

1. **组织标本：**按照动物组织质量（g）：提取液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。12000rpm 4℃离心5min，取上清置于冰浴中待测。
2. **细菌或细胞标本：**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1mL 提取液）加入提取液，冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声2秒，间隔3秒，总时间3min）。然后12000rpm 4℃离心5min，取上清置于冰浴中待测。
3. **血清等液体标本：**直接测定。

备注：待测样本应尽早检测，2～8℃保存 48 小时；更长时间须冷冻（-20℃或-80℃）保存，避免反复冻融。

试剂准备：

1. **标准液浓度梯度配制：**如下图操作

组别	blank	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Trolox 标准液（μL）	0	1	2	4	8	16	32
提取液（μL）	32	31	30	28	24	16	0
稀释后 Trolox 浓度（mmol/L）	0	0.15625	0.3125	0.625	1.25	2.5	5

注意：1，样品在什么溶液中，标准品也需用什么溶液稀释，这样可以减小误差。

2，初次测定后知道样品的浓度范围后，可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

2. **显色液的配制：**将缓冲液、催化液、底物液与反应液以189:5:4:2体积比混合，充分混匀；室温避光孵育30min即得显色液。

注意：显色液需要现用现配，室温避光保存30min。

检测程序：

1. 加待测样本：将配制好的标准液及待测样品各取 5μL 加入到酶标板孔内。
2. 加显色液 ：每个标准液及待测样品酶标板孔内加入显色液 195μL；混匀，室温静置 15min。

3. 读 数 ：将酶标板放入酶标仪中，在 431 或 723nm 处读 OD 值。

结果判断与计算：

1. 所有 OD 值建议减除空白孔值后再进行计算，如空白孔 OD 低于 0.1，也可以直接计算。
2. 以标准品浓度作横坐标，OD 值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品 OD 值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

标准品 Trolox 是一种水溶性维生素 E，具有抗氧化能力，常被用作其它抗氧化物总抗氧化能力的参考。例如，Trolox 的总抗氧化能力为 1，相同浓度情况下，其它物质的抗氧化能力用其抗氧化能力和 Trolox 相比的倍数来表示。

注意事项

1. 请自备 1.5mL 离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择 2～3 个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 检测时所有试剂都要恢复到室温，试剂盒开封后剩余试剂放回袋中 1 个月内用完。
4. 严重脂血对结果有影响，应注意避免。
5. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
6. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。