

总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒

比色法: 100 管/50 样

一、试剂组成和配制

	试剂组成	50 管/25 样	100 管/50 样	保存条件
试剂一	无色液体	60ml×1 瓶	60ml×2 瓶	2~8℃保存
试剂二	白色晶体	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2~8℃保存
试剂二应用配制: 每支粉剂加双蒸水 120ml 充分溶解(粉剂较难溶解, 如需加快溶解, 可以在 37℃水浴溶解)				
试剂三	黄色贮备液	3ml×1 瓶	5ml×1 瓶	2~8℃避光保存
	稀释液	30ml×1 瓶	60ml×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	无色粘稠液体	12ml×1 瓶	24ml×1 瓶	室温保存
试剂五	无色透明液体	12ml×1 瓶	24ml×1 瓶	室温保存
试剂五天冷时会凝固, 测试前 37℃水浴溶解直至澄清透亮方可使用				

二、操作步骤:

(一)、血清(浆)中 T-AOC 的测定 (样本前处理详见附录 I):

	测定管	对照管
试剂一 (ml)	1	1
血清(浆) (ml)	a*	
试剂二应用液 (ml)	2	2
试剂三应用液 (ml)	0.5	0.5
漩涡混匀器充分混匀, 37℃水浴 30 分钟		
试剂四 (ml)	0.1	0.1
血清(浆) (ml)		a*

混匀，放置 10 分钟，波长 520nm，1cm 光径，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

* 参考取样量：血清（血浆）为 0.1ml。

(二)、组织中 T-AOC 的测定（样本前处理详见附录 I）

	测定管	对照管
试剂一（ml）	1	1
血清浆（ml）	a*	
试剂二应用液（ml）	2	2
试剂三应用液（ml）	0.5	0.5
旋涡混匀器充分混匀，37℃水浴 30 分钟		
试剂四（ml）	0.1	0.1
血清浆（ml）		a*

混匀，
放置
10 分
钟，

波长 520nm，1cm 光径，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

*参考取样量：10%组织匀浆参考取样量：0.1~0.2ml

(三)、全血中 T-AOC 的测定（样本前处理详见附录 I）：

1、操作步骤：

(1)、前处理：将全血按照一定比例用双蒸水进行破碎（一般按照全血：双蒸水=1:9 处理），制备溶血液，待测。

(2)、操作表：

	测定管	对照管
试剂一（ml）	1	1
待测样本（ml）	a*	
试剂二应用液（ml）	2	2
试剂三应用液（ml）	0.5	0.5
漩涡混匀器充分混匀，37℃水浴 30 分钟		
试剂四（ml）	0.1	0.1
待测样本（ml）		a*

混匀，放置 10 分钟，波长 520nm，1cm 光径，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

*参考取样量：全血一般用双蒸水 1：9 稀释取 0.05ml。

三、简便操作表：

混合试剂的配制：

试剂一：试剂二：试剂三 = 1：2：0.5 的比例进行配制，现用现配

1、血清（浆）、全血简便操作表：

	对照管	测定管
待测样本（ml）		a

混合试剂 (ml)	3.5	3.5
旋涡混匀器充分混匀, 37°C 水浴 30 分钟		
试剂四 (ml)	0.1	0.1
待测样本 (ml)	a	
混匀, 放置 10 分钟, 波长 520nm, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值。		

2、组织样本简便操作表:

	对照管	测定管
组织匀浆 (ml)		a
混合试剂 (ml)	3.5	3.5
旋涡混匀器充分混匀, 37°C 水浴 30 分钟		
试剂四 (ml)	0.1	0.1
组织匀浆 (ml)	a	
试剂五 (ml)	0.2	0.2

混匀, 放置 10 分钟, 波长 520nm, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值。

四、测定原理:

机体中有许多抗氧化物质, 能使 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , 后者可与菲啉类物质形成稳固的络合物, 通过比色可测出其抗氧化能力的高低。

五、测定意义：

机体防御体系的抗氧化能力的强弱与健康程度存在着密切联系，该防御体系有酶促与非酶促两个体系，许多酶是以微量元素为活性中心，例如：超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽 S-转移酶（GST）等，非酶促反应体系中主要为维生素、氨基酸和金属蛋白质。

例如：VE、胡萝卜素、VC、半胱氨酸、蛋氨酸、色氨酸、组氨酸、葡萄糖、铜兰蛋白、转铁蛋白、乳铁蛋白等。这个体系的防护氧化作用主要通过三条途径：

- （1）消除自由基和活性氧以免引发脂质过氧化；
- （2）分解过氧化物，阻断过氧化链；
- （3）除去起催化作用的金属离子。防御体系各成份之间相互起到了协同作用，以及代偿作用与依赖作用。

附录 I：T-AOC 测定样本前处理

1、血浆样本前处理：

血浆在测试前 3500 转 / 分离心 10 分钟，取上清待测，否则有些抗凝剂会引起沉淀及混浊，肝素抗凝的血浆不要离心，血清不需要离心。

2、组织样本的前处理：

组织匀浆的制备：

准确称取组织重量，按重量(g):体积(ml)=1:9 的比例，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下，制备成 10% 的匀浆液，2500 转/分离心 10 分钟，取上清液待测。同时用考马斯亮蓝法测定匀浆蛋白浓度。

3、培养细胞的前处理：

培养细胞悬液的制备：

将培养细胞消化，离心，弃上清，留下层细胞，用生理盐水或匀浆介质制备成 $10^7/cm^3$ 的悬液，即 $10^7/ml$ 的悬液，再进行破碎。破碎细胞的方法有三种：

①、用匀浆器匀浆。（可以用匀浆机，也可以用玻璃匀浆器手工匀浆。）

②、用进口的超声粉碎机粉碎。

- ③、反复冻溶 3 次。（第③种方法有时会影响酶活力。）制备好的细胞悬液不需要离心，在测试加样前要摇匀后取样。同时用考马斯亮兰试剂测定组织蛋白。
- 4、培养细胞的上清及部分体液均可以按照血清样本处理，一般直接加样。
- 5、全血样本前处理：一般用双蒸水 10 倍稀释，具体稀释倍数及取样量要做预试。