

CheKine™ 总抗氧化能力 (TAC) 检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1500

规格: 96 T/96 S

480 T/480 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆)、尿液
	保质期: -20℃, 避光保存 12 个月

01 背景与原理

抗氧化剂在防止自由基和其他潜在有毒氧化物质的形成和清除方面发挥着重要作用。抗氧化剂种类分为三类: 酶类 (GSH 还原酶、过氧化氢酶、过氧化物酶等)、小分子类 (抗坏血酸、尿酸、GSH、维生素 E 等) 和蛋白质类 (白蛋白、转铁蛋白等)。由于氧化应激会导致许多疾病的发展, 包括阿尔茨海默病、帕金森病、糖尿病、类风湿性关节炎和神经变性, 抗氧化剂在药理学中的应用得到了深入研究。

本试剂盒检测原理是在酸性环境下, 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, 测定其在 593 nm 处的吸光度值即可计算样本的总抗氧化能力。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	96 T	480 T	
Assay Buffer (10×)	14 mL	70 mL	4℃
Substrate Diluent	21 mL	105 mL	4℃
Substrate	2.1 mL	10.5 mL	-20℃, 避光保存
Reaction Buffer	2.1 mL	10.5 mL	-20℃, 避光保存
Ascorbic Acid (Positive Control)	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 593 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS (pH 7.4)、去离子水	用于稀释试剂
其他	匀浆器（组织样本）、冰盒、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Assay Buffer (1×)	用去离子水稀释至 1×Assay Buffer	临用前配制；4℃保存 2 个月
Substrate Diluent	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Substrate	即用型；使用前平衡到室温	-20℃保存；避免反复冻融
Reaction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	-20℃保存；避免反复冻融
Working Ascorbic Acid (Positive Control)	加入 1 mL 1×Assay Buffer, 混匀, 取 0.1 mL 加入到 0.9 mL 1×Assay Buffer 中, 混匀, 浓度为 0.1 mg/mL	配好后可在 4℃避光保存 1 个月
工作液	将 Substrate Diluent、Substrate、Reaction Buffer 按 10:1:1 的比例混合	现配现用

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80℃保存 1 个月。不能用 EDTA 作为血浆样品的抗凝剂。样品中也不能含有 Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂及 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的还原剂。

- 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 1×Assay Buffer，冰浴匀浆，转移到 1.5 mL EP 管中，10000 g，4℃离心 10 min，取上清液置冰上待测。
- 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 1×Assay Buffer 捣碎，冰浴超声破碎 5 min（功率 20%或 200 W，

超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），转移到 1.5 mL EP 管中，10000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液置冰上待测。

- 细胞或细菌：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用冷的 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min 后弃上清，加入 1 mL $1 \times$ Assay Buffer，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），10000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- 血清、血浆（其他生物液体）：直接测定。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 593 nm。
2. 检测体系配制：按如下体系在酶标板中进行检测体系配制。空白孔和阳性孔一般只做 1 次。

试剂	空白孔 (μL)	测定孔 (μL)	阳性孔 (μL)
去离子水	10	0	0
样本	0	10	0
Working Ascorbic Acid (Positive Control)	0	0	10
工作液	180	180	180

3. 吸光度检测：充分混匀后，室温反应 5 min，测定 593 nm 处的吸光度值，分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 和 $A_{\text{阳性}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网 [<https://www.abbkine.cn>] > 进入“技术中心” > 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{阳性}} = A_{\text{阳性}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

总抗氧化能力计算标准曲线公式： $y = 4.4664x + 0.0685$ ， $R^2 = 0.9986$ ，其中 y 为 Fe^{2+} 终浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)， x 为吸光值差值 ΔA ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入标准曲线公式，求得 y ($\mu\text{mol/mL}$)。

3. 样本 TAC 计算

单位定义：样本的抗氧化能力以达到同样吸光度变化值 (ΔA) 所需的标准液 Fe^{2+} 离子浓度 ($\mu\text{mol/mL}$) 表示。

- 按样本质量计算

$$\text{TAC } (\mu\text{mol/g}) = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 19 \times y \div W$$

- 按细胞或细菌数量计算：

$$\text{TAC } (\mu\text{mol}/10^4) = y \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}} \div 500 = 0.038 \times y$$

- 按液体体积计算

$$\text{TAC } (\mu\text{mol/mL}) = y \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} = 19 \times y$$

● 按蛋白浓度数量计算

$$TAC (\mu\text{mol}/\text{mg}) = y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) = 19 \times y \div Cpr$$

$V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.19 mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 0.01 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 1×Assay Buffer 体积, 1 mL; W : 样品质量, g; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL; 500: 细胞或细菌数量, 以 10^4 为单位。

07 结果展示

示例-1: 取 10 μL 蜂蜜, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.774 - 0.132 = 0.642$, 代入标准曲线, 计算 $y = 2.936$ 。按液体体积计算得: $TAC (\mu\text{mol}/\text{mL}) = y \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 19 \times y = 55.78 \mu\text{mol}/\text{mL}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1.5$, 可用 1×Assay Buffer 进一步稀释样本, 再重新进行测定。

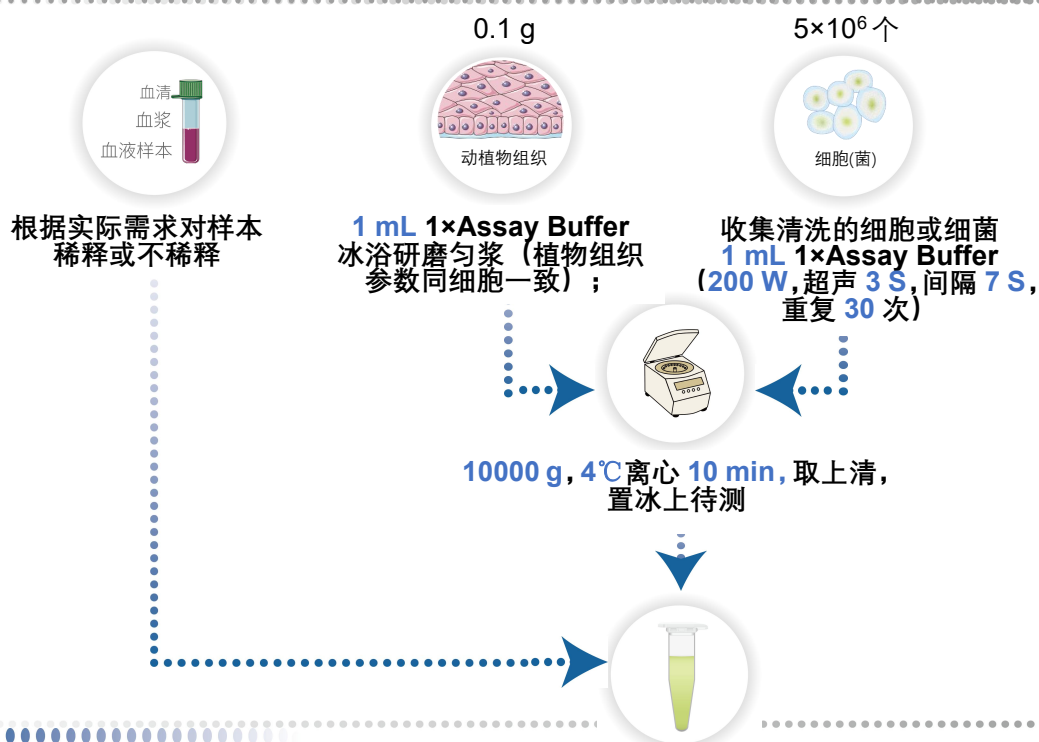
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1040	CheKine™ 过氧化氢酶 (CAT) 活性分析试剂盒 (微量法)
KTB1150	CheKine™ 过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1030	CheKine™ 超氧化物歧化酶 (SOD) 活力检测试剂盒 (微量法)
KTB1510	CheKine™ 尿酸 (UA) 检测试剂盒 (微量法)
KTB1091	CheKine™ 羟自由基清除能力检测试剂盒 (微量法)
KTB1550	CheKine™ 铜蓝蛋白 (Cp) 活性检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 总抗氧化能力 (TAC) 检测流程示意图

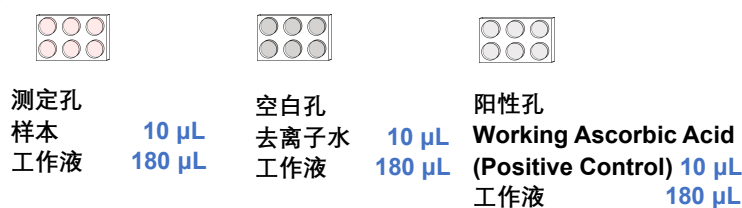
(Abbkine 货号: KTB1500)

样本处理



体系配置

工作液: 180 μL/孔
Substrate Diluent 150 μL
Substrate 15 μL
Reaction Buffer 15 μL
Working Ascorbic Acid (Positive Control): 加入 1 mL 1×Assay Buffer 混匀, 再用 1×Assay Buffer 稀释 10 倍即可



数据检测

迅速混匀, 室温孵育 5 min

测定 593 nm 吸光度值 A
结果计算