（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K225-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(590-600 nm)

Elabscience®总抗氧化能力(T-AOC)比色法测试盒 (FRAP 法)

Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Colorimetric Assay Kit (FRAP Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100
邮箱：biochemical@elabscience.cn
网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、唾液、尿液、动植物组织、细胞（或细胞上清）中的总抗氧化能力。

检测原理

在酸性条件下抗氧化物质可以还原 Fe^{3+}-TPTZ 产生蓝色的 Fe^{2+}-TPTZ，在 593 nm 处测定吸光度可以计算出样本中的总抗氧化能力。

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48T)	规格 2 (Size 2)(96T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	TPTZ 溶液 (TPTZ Solution)	1 mL×1 支	2 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物液 (Substrate Solution)	1 mL×1 支	2 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 标准品 ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$ Standard)	100 mg×1 支	200 mg×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪（590-600 nm）

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

试剂准备

① 试剂盒中的试剂平衡至室温。

② FRAP工作液的配制：

按试剂一：试剂二：试剂三为10: 1: 1的体积比混匀，现配现用，2小时内用完。

③ 100 mmol/L硫酸亚铁溶液的配制：

用电子天平精确称取试剂四27.8 mg，加双蒸水1 mL溶解混匀即可。该试剂必须现用现配，硫酸亚铁溶液容易氧化产生三价铁盐，使溶液的颜色从最初的淡绿色逐渐转变为浅黄色。如果发现溶液的颜色已经呈现明显的黄色，弃之，重新配制。

④ 不同浓度标准品的稀释（先将100 mmol/L硫酸亚铁用双蒸水稀释至10 mmol/L，再稀释至以下的浓度）：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	**0**	**0.3**	**0.6**	**0.9**	**1.2**	**1.8**	**2.1**	**2.5**
10 mmol/L 标准品(μL)	0	15	30	45	60	90	105	125
双蒸水(μL)	500	485	470	455	440	410	395	375

样本准备

① 样本处理

样本要求:样本中不能含有 DTT、2- 巯基乙醇等还原性试剂。

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织或细胞样本：匀浆介质是 PBS（0.01 M，pH 7.4），匀浆离心后取上清进行测定，留取部分上清测蛋白。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.049-2.5 mmol/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	HepG2 细胞匀浆	不稀释
人唾液	不稀释	5%小鼠肝匀浆	不稀释
人尿液	不稀释	10%绿萝匀浆	不稀释
细胞上清	不稀释		

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

实验关键点

① 在酸性条件下呈蓝色或近蓝色的试剂对检测结果会产生干扰，需要尽量避免。

② 硫酸亚铁的标准液必须现用现配。

操作步骤

① 标准孔：取 5 μL 8 个不同浓度的标准品，加入到对应的酶标板孔；
测定孔：取 5 μL 待测样本，加入到对应的酶标板孔。

② 向步骤①中的各孔加入 180 μL FRAP 工作液。

③ 37℃孵育 3-5 min，酶标仪 593 nm，测定 OD 值。

注：试剂加入酶标孔时，应触酶标板底加入；加样要慢，避免产生气泡。（气泡影响测定结果）。

操作表

	标准孔	**测定孔**
不同浓度硫酸亚铁(μL)	5	--
待测样本(μL)	--	5
FRAP 工作液(μL)	180	180
37℃孵育 3-5 min，酶标仪 593 nm，测定 OD 值。		

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清（浆）等液体样本总抗氧化能力计算公式：

$$\text{T-AOC（mmol/L）} = (\Delta A_{593} - b) \div a \times f$$

组织、细胞总抗氧化能力计算公式：

$$\text{T-AOC（mmol/gprot）} = (\Delta A_{593} - b) \div a \times f \div C_{pr}$$

注解：

y：标准 OD 值-空白 OD 值

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA_{593}：样本 OD 值-空白 OD 值

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

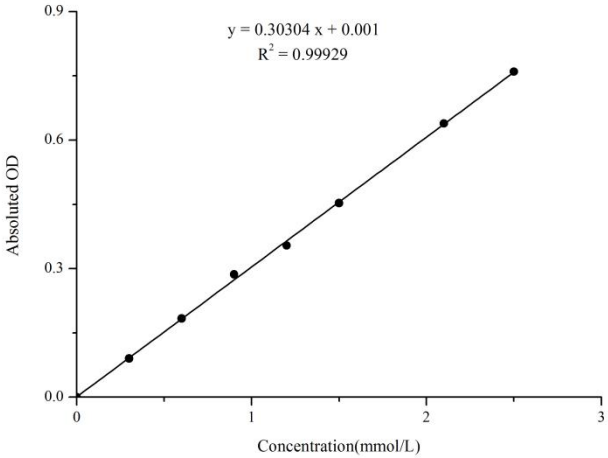
C_{pr}：待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.049-2.5 mmol/L	平均批间差	8.1 %
灵敏度	0.049 mmol/L	平均批内差	3.9 %
平均回收率	103%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



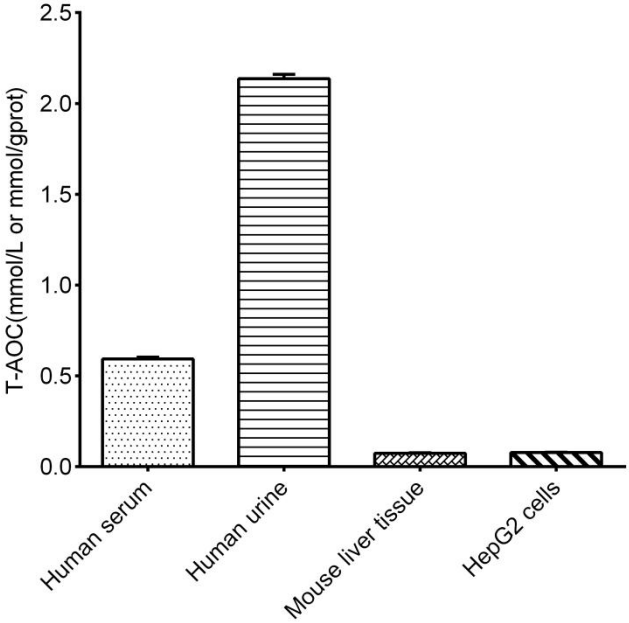
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考)：

取5 μL人血清，按操作操作，结果如下：标准曲线：y = 0.30304x +0.001，空白孔平均OD值为0.0572，测定孔平均OD值为0.2491，计算结果为：

T-AOC（mmol/L）= (0.2491-0.0572-0.001) ÷ 0.30304×1=0.63 mmol/L

按照操作过程，测定人血清（加样量5 μL）、人尿液（加样量5 μL）、小鼠肝脏组织（5%组织匀浆的蛋白含量2.30 g/L，加样量5 μL）和HepG2细胞（蛋白含量2.98 g/L，加样量5 μL）中的总抗氧化能力（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样,避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>2.5 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Liu Q , Wang L , Wang Z ,et al.Preparation and characterization of carvacrol/soybean protein isolate composite film with efficient antimicrobial and antioxidant activities and its application in grape preservation[J].Food Chemistry, 2025, 464.DOI:10.1016/j.foodchem.2024.141572.

2. Bao L , Huang Y , Gu F ,et al.Zearalenone induces liver injury in mice through ferroptosis pathway[J].The Science of the total environment, 952:175875[2025-03-03].DOI:10.1016/j.scitotenv.2024.175875.

3. Wafriy C I , Kamsani Y S , Nor-Ashikin M N K .Inflammation and oxidative stress impair preimplantation embryonic morphogenesis in allergic asthma model[J].Cells & Development, 2023, 175.DOI:10.1016/j.cdev.2023.203864.

4. Marhamati S , Younesian O , Mir S M ,et al.The effects of high doses of selenium supplementation on mRNA and protein levels of cMLCK levels and total antioxidant capacity in rat heart tissue[J].Food and Chemical Toxicology, 2024, 191(000):4.DOI:10.1016/j.fct.2024.114886.

5. Miao Q , Wang R , Sun X ,et al.Combination of puerarin and tanshinone IIA alleviates ischaemic stroke injury in rats via activating the Nrf2/ARE signalling pathway[J].[2025-03-03].