



## 总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒(ABTS法)

货号: R43824

### 产品简介:

ABTS在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的ABTS<sup>+</sup>，在抗氧化物存在时ABTS<sup>+</sup>的产生会被抑制，在734nm或414nm测定ABTS<sup>+</sup>的吸光度即可测定并计算出样品的总抗氧化能力。Trolox是一种维生素E的类似物，具有和维生素E相近的抗氧化能力，用作其它抗氧化物总抗氧化能力的参考。

### 试剂盒的组成和配制:

| 试剂名称 | 规格      | 保存要求 | 备注                                |
|------|---------|------|-----------------------------------|
| 试剂一  | 粉剂mg×1支 | 4℃保存 | 临用前甩几下使粉剂落入底部，再加1.47mL蒸馏水，充分溶解备用。 |
| 试剂二  | 粉剂mg×1支 | 4℃保存 | 临用前甩几下使粉剂落入底部，再加2.86mL蒸馏水，充分溶解备用。 |
| 标准品  | 粉剂mg×1支 | 4℃保存 | 若重新做标曲，则用到该试剂。                    |

工作液配置:临用前将加水溶解后的试剂一和试剂二按照1:1比例混合，避光反应12h后(二天内用完)，再稀释40倍备用，当待检测样品为水溶性样品时，用PBS或蒸馏水稀释;当待检测样品为非水溶性样品时，用80%乙醇或无水乙醇稀释(最好现配现用)。

有效期: 6个月

### 所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿(光径1cm)、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、无水乙醇和蒸馏水。

### 总抗氧化能力测定:



建议正式实验前选取2个样本做预测定, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

注:样品中不能添加DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的物质, 也不宜添加Tween、Triton和NP-40等去垢剂。

## 1、样本制备:

### ①组织样本:

称取约0.1g组织, 加入1mL的冷PBS(水溶性样本)或80%乙醇(非水溶性样本), 进行冰浴匀浆, 匀浆后转入离心管中。12000rpm, 4°C离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

### ②细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清:取500万细菌或细胞加入1mL的80%乙醇(自备)进行匀浆:匀浆后转入2mL离心管中:于60°C, 200-300W条件下超声提取30min(间隔5min振荡混匀一次);12000rpm, 离心10min, 取上清置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量( $10^4$ 个):提取液(mL)为1000~5000:1比例进行提取。3液体样本:直接检测;若浑浊, 离心后取上清检测。

## 2、上机检测:

①可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至414nm, 蒸馏水调零。

②不同样本清除能力不一, 可先选取2个样本做检测, 若A测定-A对照接近零, 需对2样本进行稀释(稀释液与组织提取液一致, 即水溶性样本用PBS或蒸馏水稀释, 非水溶性样本用80%乙醇稀释)后再检测, 稀释倍数D代入公式计算。

③在EP管中依次加入:

| 试剂名称( $\mu$ L) | 测定管 | 对照管 | 空白管(做一次) |
|----------------|-----|-----|----------|
| 样本             | 40  | 40  |          |
| PBS或80%乙醇      |     | 760 | 40       |
| 工作液            | 760 |     | 760      |

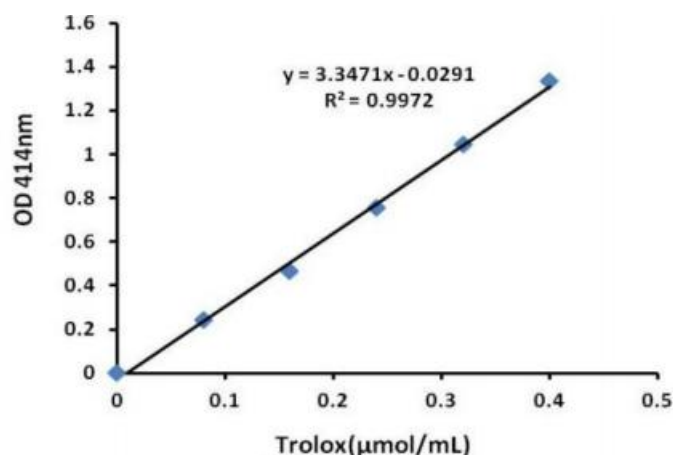


混匀, 室温(25℃)避光静置6min,所有液体转移至1mL玻璃比色皿(光径1cm)  
中, 于414nm处读取吸光值A,  $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ 。

【注】若一次性样本较多, 可用排枪或者分批检测, 以使测定管的反应时间(避光静置6min)保持一致。

### 结果计算:

1、标准曲线:  $y = 3.3471x - 0.0291$ , x是标准品 Trolox 摩尔浓度( $\mu\text{mol/mL}$ ), y是A。



2、按样本质量计算:

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力}(\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0291) \div 3.3471 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ &= 0.3 \times (\Delta A + 0.0291) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按样本质量计算:

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力}(\text{nmol Trolox}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0291) \div 3.3471 \times V_1 \times 10^3] \div (V_1 \div V \times 500) \times D \\ &= 298.8 \times (\Delta A + 0.0291) \div 500 \times D \end{aligned}$$

4、液体样本:

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力}(\mu\text{mol Trolox/mL}) &= [(\Delta A + 0.0291) \div 3.3471 \times V_1] \div V_1 \times D \\ &= 0.3 \times (\Delta A + 0.0291) \times D \end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---反应中样品体积, 40 $\mu\text{L}$ =0.04 mL;



W---样品质量, g;

Trolox分子量---250.29。

500---细菌或细胞总数, 万;

D---稀释倍数, 未稀释即为1。

附:标准曲线制作过程:

- 1.制备标准品母液(4umol/mL):称取2mg标准品即Trolox至一新EP管, 再加2mL乙醇溶解充分溶解, 即4umol/mL标准品, 备用。
- 2.把母液用相应的提取液稀释成以下浓度梯度的标准品:0, 0.08, 0.16, 0.24, 0.32, 0.4umol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3.按照测定管加样体系操作, 依据结果即可制作标准曲线。



源叶