

## 总抗氧化能力 (T-AOC) 试剂盒说明书 (ABTS 法)

(货号: ADS-F-YHKY004-48 分光法 48 样)

### 一、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。

### 二、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 1 支	4°C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 1 支	4°C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 1 支	4°C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 20-40 倍备用 (使 A 空白管在 1.0±0.2), 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)。

### 三、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。

### 四、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 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:

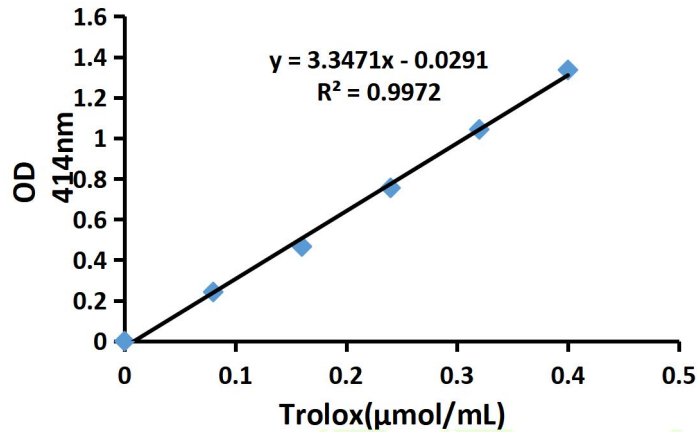
试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 (做一次)
样本	40	40	
PBS 或 80%乙醇		760	40
工作液	760		760

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。

## 五、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  $\Delta A$ 。



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、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；

V<sub>1</sub>---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。

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（4 $\mu\text{mol/mL}$ ）：称取 2mg 标准品即 Trolox 至一新 EP 管，再加 2mL 乙醇溶解充分溶解，即即 4 $\mu\text{mol/mL}$  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：0，0.04，0.08，0.16，0.24，0.32  $\mu\text{mol/mL}$ 。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。