

总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒(ABTS 法)

【产品简介】 ◆ABTS在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的ABTS⁺，在抗氧化物存在时ABTS⁺的产生会被抑制，在734nm或414nm测定ABTS⁺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。

【货号】 TC1007

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	备注
试剂一	粉剂 mg×1支	4℃	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加0.49mL蒸馏水, 充分溶解备用。
试剂二	粉剂 mg×1支	4℃	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加1.43mL蒸馏水, 充分溶解备用。
标准品	粉剂 mg×1支	4℃	若重新做标曲, 则用到该试剂。

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 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℃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℃，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(10⁴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酶标仪预热30min 以上，调节波长至414nm。

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，再稀释40倍备用，当检测样品是水性样品，用PBS和水稀释，当待检样品是非水溶性样品时，用乙醇或者无水乙醇稀释(最好现配现用)

④在96孔板中依次加入：

试剂名称(uL)	测定管	对照管	空白管(做一次)
样本	10	10	
PBS或80%乙醇		190	10
工作液	190		190
混匀，室温(25℃)避光静置6min，于414nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ 。			

⑤标准曲线结果计算①由标准品测定获得，如需重制见随货说明书或咨询。

3、结果计算：

①标准曲线： $y = 1.7571x - 0.028$ ，x是标准品Trolox 摩尔浓度($\mu\text{mol/mL}$)，y是 ΔA 。

②按样本质量计算：

总抗氧化能力($\mu\text{mol Trolox/g鲜重}$) = $[(\Delta A + 0.0218) \div 1.7571 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D = 0.57 \times (\Delta A + 0.0218) \div W \times D$

③按细菌或细胞数量计算：

总抗氧化能力($\text{nmol Trolox}/10^4\text{cell}$) = $[(\Delta A + 0.0218) \div 1.7571 \times V_1 \times 10^3] \div (V_1 \div V \times 500) \times D = 569.1 \times (\Delta A + 0.0218) \div 500 \times D$

④液体样本：

总抗氧化能力($\mu\text{mol Trolox/mL}$) = $[(\Delta A + 0.0218) \div 1.7571 \times V_1] \div V_1 \times D = 0.57 \times (\Delta A + 0.0218) \times D$

V—加入提取液体积，1mL； V₁—反应中样品体积，10 μL = 0.01mL；

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。

【注意事项】

- 1、样品中不宜添加去垢剂和影响氧化还原的还原剂
- 2、样品的吸光值应该在标准曲线内，超出应当稀释或者浓缩。
- 3、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。