

Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Kit

总抗氧化能力 (T-AOC) 试剂盒说明书 (ABTS 法)

货号: G0142W | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、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。

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 mg×1 支	4°C 保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加 0.98mL 蒸馏水, 充分溶解备用。
试剂二	粉剂 mg×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 mg×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 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)。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、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 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 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 在 96 孔板中依次加入：

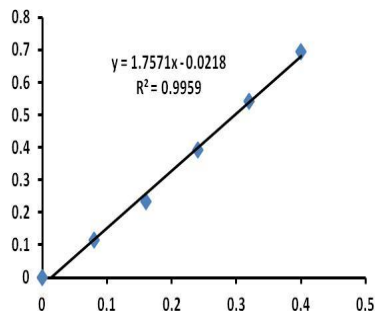
试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 (做一次)
样本	10	10	
PBS 或 80%乙醇		190	10
工作液	190		190

混匀，室温（25℃）避光静置 6min，于 414nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ 。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

- 1、标准曲线： $y = 1.7571x - 0.0218$ ，x 是标准品 Trolox 摩尔浓度 (μmol/mL)，y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 2、按样本质量计算：

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

- 3、按细菌或细胞数量计算：

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

- 4、液体样本：

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

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---反应中样品体积，10μL=0.01 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。