

总抗氧化能力（ABTS 法）试剂盒说明书

微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

测定对象中各种抗氧化物质和抗氧化酶等构成总抗氧化水平。在生物学、医学和药学研究中常常检测血浆、血清、唾液、尿液等各种体液，细胞或组织等裂解液、植物或中草药抽提液及各种抗氧化物(antioxidant)溶液的总抗氧化能力。

测定原理：

ABTS 法是使用最广泛的间接检测方法，可用于亲水性和亲脂性物质抗氧化能力测定。ABTS 经氧化后生成稳定的蓝绿色阳离子自由基 ABTS⁺，能溶于水相或酸性乙醇介质中，在 734nm 处有最大吸收。被测物质加入 ABTS⁺溶液后，所含抗氧化成分能与 ABTS⁺发生反应而使反应体系褪色。在 734nm 检测吸光度的变化，并以 Trolox 作为对照体系量化抗氧化物质的抗氧化能力。

组成：

产品名称	AO038-100T/96S	Storage
提取液：液体	120ml	4°C
试剂一：液体	24ml	4°C避光
试剂二：粉剂	2 瓶	4°C避光
说明书	一份	

混合液(现配现用)：将试剂一、试剂二、试剂三按 10:1:1 的比例混合，使用前 37°C预温。

自备仪器和用品：

酶标仪、低温台式离心机、可调式移液器、恒温水浴锅、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

样品的制备：

(1) 血清、血浆、唾液或尿液等液体样品

血浆（制备时可以使用肝素或柠檬酸钠抗凝，不宜使用 EDTA 抗凝）4°C，5000rpm 离心 10min，取上清待测。血清、唾液或尿液样品直接用于测定，也可以-80°C冻存（不宜超过 30 d）后再测定。

(2) 组织样品



按照组织质量 (g) : 提取液体积(ml)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1ml 提取液) 进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

(3) 细胞样品

按照细胞数量 (10⁴ 个) : 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1ml 提取液), 冰浴超声波破碎 (功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 10000g, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 734nm。
- 2、工作液的配置: 临用前取试剂二一瓶, 加入 11ml 试剂一, 震荡混匀 20min 后, 静置, 取上清使用。
(注意, 现配现用)
- 3、样本测定

试剂名称 (μl)	空白管	测定管
样品		10
提取液	10	
工作液	190	190
充分混匀, 10min 内测定 734nm 吸光值, $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$		
注意: 空白管只需测定一次, 吸取工作液时不要吸到底部沉淀, 若 A 测定小于 0.4, 需用提取液稀释后检测。		

总抗氧化能力计算公式:

1、以自由基清除率表示:

$$\text{ABTS 自由基清除率 (\%)} = (A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{空白}} \times 100\%$$

2、以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量表示:

标准曲线: $y = 0.7021x - 0.0012$ $R^2 = 0.9985$ x: Trolox 浓度(μmol/mL)
y: 吸光值差值 ΔA

单位定义: 以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量来表示样本的 ABTS 自由基清除能力。

(1) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 (\mu mol Trolox/g 鲜重)} &= (\Delta A + 0.0012) \div 0.7021 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 1.424 \times (\Delta A + 0.0012) \div W \end{aligned}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 (\mu mol Trolox/mg prot)} &= (\Delta A + 0.0012) \div 0.7021 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) \\ &= 1.424 \times (\Delta A + 0.0012) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$



(3) 按细胞计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox}/10^4\text{cell}) &= (\Delta A + 0.0012) \div 0.7021 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \\ &= 1.424 \times (\Delta A + 0.0012) \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox}/\text{ml}) &= (\Delta A + 0.0012) \div 0.7021 \\ &= 1.424 \times (\Delta A + 0.0012) \end{aligned}$$

V 样总: 加入提取液体积, 1 ml; V 样: 反应中样品体积, 10 μ L; W: 样品质量, g;

Cpr: 样本蛋白浓度, mg/ml

注意事项:

1. 尽量避免使用在中碱性条件下呈蓝色或接近蓝色的试剂, 否则对本试剂盒的检测结果产生干扰。
2. 样品中不宜添加 Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂和 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的还原剂。

