

**ARBEIDSBESKRIVELSE**  
**Institutt for husdyr-og akvakulturvitenskap, UMB**

---

Metodenavn: **Total antioxidantstatus (TAS)**

IHA-nr.: ARB 1165

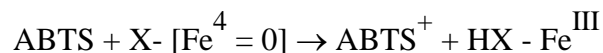
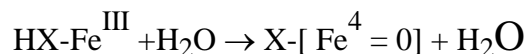
---

### 1. Innledning

Levende celler kan skades og drepes ved en kjemisk prosess som kalles oksydering der cellene blir angrepet av svært sterkt reagerende "frie radikaler". Når det er antioksidanter tilstede, så binder de frie radikalene seg til antioksidantene i stedet for cellene, slik at Cellene blir beskyttet.

### 2. Analyseprinsipp, hensikt

ABTS (2,2-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]) inkuberes med peroxidate (metmyoglobin) og  $H_2O_2$  for produksjon av det radikale kationet ABTS. Dette har en relativ stabil blågrønn farge, som måles ved 600nm. Antioksidantene i prøven skyldes hemmingen av fargeproduksjonen med en grad som er proporsjonal til konsentrasjonen.



$HX-Fe^{III}$  = Metmyoglobin

$X-[Fe^{4+} = O]$  = Ferrylmyoglobin

ABTS = 2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]

ABTS er et registrert handelsmerke til Boehringer Mannheim.

### 3. Spesielle merknader

Linier opp til 2,5mmol/l. Prøver med høyere konsentrasjon må fortynnes med 0,9 % NaCl. Fortynning av prøven fører til økning opp mot 20 % i verdi, og anbefales bare hvis det er Absolutt nødvendig!

### 3. Anbefalt utstyr

Spektrofotometer, Cobas Mira S

Pipetteutstyr

Dobbeltdestilert vann

IHF/NLH						ARB
Utarbeidet Inger Joh. Jørgensen	Godkjent Anna Haug	Gjelder fra 2001	Revisjon	Erstatter	Dokumentnavn: Arb.Total antioxidantstatu s (TAS).doc1165 AOD	Side 1-2

#### 4. Reagenser

Det brukes ferdige kit til analysen. Total antioxydant status NX 2332. Disse kan kjøpes hos MedKjemi a.s.

Kitet inneholder:

- 1 Buffer som er ferdig til bruk
2. Cromogen som skal tilsettes 10ml buffer. Stabilt 2 dager ved +2-8°C eller 8 timer ved +15-20°C.
3. Substratet er klart til bruk. Stabilt til dato ved lagring +2-8°C.
4. Standard løses i 1ml dobb.destilert vann. Stabilt i 2 dager ved +2-8°C, eller 1mnd. Ved –20°C.
5. Kontroll(NX 2331) må kjøpes separat på samme sted som reagens.

#### 5. Prøvemateriale

Friskt serum eller heparinisert plasma. Prøvene kan lagres ved +2-8°C i opp til 36 timer. Plasma kan fryses i 14 dager, men unngå gjentatt tining/frysing. Man trenger ca 0,5-1,0ml prøve.

#### 5. Arbeidsbeskrivelse

Prøvene pipeteres i Cobas-kopper og settes på maskinen, sammen med reagenset. Det er 2 reagenser R1 og R2, hvor R2(substratet) er start-reagenset. Dvs. R2 skal være i den minste Koppen på reagensracket. Husk å ta med standard og kontroll.

Standard skal stå i posisjon 2, og kontroll i posisjon 6.

(Det er en egen kontroll som ligger frosset i fryser1 på fryser-rom 1 etg.)Koden til analysen ligger på level 2 -T.

Programmer maskinen etter brukermanualen til Cobas (arb1162cobas) og start.

IHF/NLH						ARB
Utarbeidet Inger Joh. Jørgensen	Godkjent Anna Haug	Gjelder fra 2001	Revisjon	Erstatter	Dokumentnavn: Arb.Total antioxydantstatu s (TAS).doc1165 AOD	Side 2-2