ABTS 自由基清除能力检测试剂盒(微板法)

产品编号：MA1523　　规格：96T

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1523-1 96T	保存条件	有效期	运输条件
试剂一	粉末×2	2-8℃	自生产之日起 6 个月	湿冰运输 （按季节）
试剂二	粉末×1	2-8℃		
标准品	粉末×1	2-8℃		
96 孔酶标板	1 个	RT		
说明书	1 份			

产品简介

ABTS 自由基清除能力检测试剂盒(微板法)，即 ABTS Free Radical Scavenging Capacity Assay Kit，可用于亲水性和亲脂性物质抗氧化能力测定，是使用最广泛的间接检测方法。ABTS 是一种介体物质，用 $K_2S_2O_8$ 与 ABTS 直接生成稳定的阳离子自由基 $ABTS^+$，在 734nm 处有最大吸收峰。被测物质加入 $ABTS^+$溶液后，所含抗氧化成分能与 ABTS 自由基发生反应而使反应体系褪色，734nm 的吸光度下降，在一定范围内其吸光度的变化与自由基被清除的程度成正比。通过测定吸光度下降的程度，进而对样本中 ABTS 清除能力进行定量分析。

使用方法(仅供参考)

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

1. 工作液配制：

① 试剂一溶解：用前甩几下使粉剂落入底部，每支加 0.49mL 蒸馏水溶解（溶解后一周内用完）。

② 试剂二溶解：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。

③ 混合：临用前将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（两天内用完），再用无水乙醇稀释 20-30 倍备用，使 $A_{空白管}$在 0.7±0.1，用乙醇稀释后的液体即工作液最好现配现用。

2.准备样品：

① 组织样本：

a.称取约 0.1g 新鲜组织或者 0.05g 烘干样本（将样本在 105℃下杀青 3min，然后 60℃烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛，得到烘干样本）；

b.加入 1mL 的 80%甲醇提取液（若鲜样需研磨均质），于 60℃，200-300W 条件下超声提取 30min（间隔 5min 振荡混匀一次），若有损失需用 80%甲醇定容至 1mL；

c.12000rpm，室温离心 10min，取上清测定。

【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 细菌或细胞样本：

a.收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；

b.取约 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 80%甲醇提取液进行匀浆；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），若有损失需用 80%甲醇定容至 1mL；

c.12000rpm，室温离心 10min，取上清液，置冰上待测。

【注】若增加样本量，可按每 0.5~1×10^7 个细菌/细胞数量加入 1mL 提取液的比例进行提取。

③ 液体样本：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

3. 样品测定：

① 酶标仪预热 30min，设定波长到 734nm。

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（用 80%甲醇提取液稀释）后再检测，稀释倍数 D 代入公式计算。

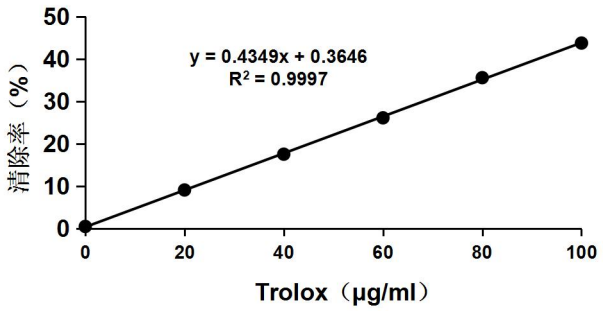
③ 在 96 孔板中依次加入：

加入物(μL)	测定管	对照管	空白管
样本	10	10	-
无水乙醇	-	190	10
工作液	190	-	190
混匀，室温(25℃)避光静置 6min，于 734nm 处读取吸光值 A			

【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。

4. 计算：

① 标准曲线：**y = 0.4349x + 0.3646**；x 是标准品 Trolox 浓度（μg/mL），y 是清除率（%）。



② **ABTS 自由基清除率(%)=[(1-($A_{测定}$-$A_{对照}$)÷$A_{空白}$)×100]%**

③ 定义：用从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。

④ 按照样本质量计算：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/g 鲜重)

=[(清除率-0.3646)÷0.4349×V_1]÷(V_1÷V×W)×D

=2.3×(清除率-0.3646)÷W×D

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/g 鲜重)=[(70-0.3646)÷0.4349×V_1]÷(V_1÷V×W)×D

⑤ 按照细菌/细胞计算：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/10^4 cell)

=[(清除率-0.3646)÷0.4349×V_1]÷(V_1÷V×500)×D

=2.3×(清除率-0.3646)÷500×D

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/10^4cell)=[(70-0.3646)÷0.4349×V_1]÷(V_1÷V×500)×D

⑥ 液体样本：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/mL)

=[(清除率-0.3646)÷0.4349]×D

=2.3×(清除率-0.3646)×D

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/mL)=[(70-0.3646)÷0.4349]×D

V--加入提取液体积，1 mL

V_1---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/细胞数量，万

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(1mg/mL)：称取 2mg 标准品即 Trolox 至离心管，加入 2mL 的甲醇，充分溶解混匀，即 1mg/mL 标准品，备用。

② 把母液用甲醇稀释成以下浓度梯度的标准品：0，20，40，60，80，100μg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

③ 按照测定管的加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线。

注意事项

1. 若想要重新做标曲，则使用试剂盒中的标准品试剂。正常情况直接代入现有公式即可。
2. 所有试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
4. 本产品仅限科研实验使用，禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。

大连美仑生物技术有限公司
官网:https://www.meilunbio.com/
电话/邮箱:0411-62910999 sales@meilune.com
本产品仅供科研使用