

总抗氧化能力(ABTS法)测试盒(微量法)

注意: 正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品货号: BA2418

产品规格: 100管/96样

研究意义:

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。

自备实验用品:

恒温水浴锅、低温离心机、酶标仪、96孔板和蒸馏水。

试剂组成和配制:

提取液:液体120mL×1瓶,4°C保存。 试剂一:液体24mL×1瓶,4°C避光保存。 试剂二:粉剂×2瓶,4°C避光保存。

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℃,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℃冻存(不宜超过30d)后再测定。

2. 组织样品

按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: $5\sim10$ 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(10^4 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。

操作步骤:

- 1. 酶标仪预热30min,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. 操作表(在EP管中反应)

	空白管	测定管
提取液(μL)	10	-



上海尚宝生物科技有限公司 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号 电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520 邮箱: saintbio@126.com http://www.saint-bio.com



	样品(μL)	-	10
	工作液(μL)	190	190
Ī	充分混匀, 10 min内测定 734 nm吸光值, \triangle A= A_{gel} - A_{age}		

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。

总抗氧化能力计算公式:

1. 以自由基清除率表示:

ABTS自由基清除率(%)=(A空白-A测定)÷A空白×100%

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: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。

(1) 按样本质量计算

总抗氧化能力(μmol Trolox/g 鲜重) = (ΔA+0.0012) ÷0.7021×V样÷(V样÷V样总×W)

 $= 1.424 \times (\Delta A + 0.0012) \div W$

(2) 按样本蛋白浓度计算

总抗氧化能力(μmol Trolox/mg prot)= (ΔA+0.0012) ÷0.7021×V样÷(V样÷V样总×Cpr)

= $1.424 \times (\Delta A + 0.0012) \div Cpr$

(3) 按细胞计算

总抗氧化能力 (μmol Trolox/10⁴cell) = (ΔA+0.0012) ÷0.7021×V样÷ (V样÷V样总×细胞数量(万个))

 $= 1.424 \times (\Delta A + 0.0012) \div$ 细胞数量(万个)

(4) 按液体体积计算

总抗氧化能力(μ mol Trolox/mL)=(Δ A+0.0012)÷0.7021

 $= 1.424 \times (\Delta A + 0.0012)$

V样总: 加入提取液体积, 1mL; V样: 反应中样品体积, 10μL; W: 样品质量, g; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL \circ

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。
- 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。

