ABTS 清除能力试剂盒(含清除率与 Trolox 当量结果)(分光法)

产品货号：BA3348

产品规格：48 样

指标介绍：

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 $ABTS^+$，抗氧化物质与 $ABTS^+$发生反应而使反应体系褪色。

$ABTS^{+\cdot}$自由基离子的最大吸收波长为 734nm，所以，A734nm 可以检测 $ABTS^{+\cdot}$自由基离子的浓度。如果 A734nm 减小，表明 $ABTS^{+\cdot}$自由基离子被清除，进而对样本中 ABTS 清除能力进行定量分析。

试剂盒的组成和配制：

试剂组分	48 样	存放温度	注意事项
试剂一	粉剂 3 支	2-8℃，避光	每支： 1. 临用前 8000g 4°C 离心 2mim 使试剂落入管底； 2. 加入 0.5mL 蒸馏水溶解； 3. 溶解后的试剂一周内用完。
试剂二	粉剂 1 支	2-8℃	1. 临用前 8000g 4°C 离心 2mim 使试剂落入管底； 2. 加入 1.45mL 蒸馏水，充分溶解备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	粉剂 1 支	2-8℃	1. 若重新做标曲，则用到该试剂； 2. 按照说明书中标曲 制作步骤进行配制； 3. 溶解后的标品一周内用完。

工作液配置：

1. 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（二天内用完）；
2. 用无水乙醇稀释 20-30 倍备用，使 A 空白管在 1.0±0.2；
3. 工作液最好现配现用。

实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1mL 比色皿、离心管、分光光度计、甲醇、无水乙醇、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1. 样本提取：

① 组织样本：

称取约 0.1g 新鲜组织或者称取约 0.05g 烘干样本（将样本在 105°C 下杀青 3min，然后 60°C 烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛，得到烘干样本），加入 1mL 的 80%甲醇提取液（若鲜样需研磨均质），于 60°C，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。12000rpm 室温离心 10min，取上清测定。

扫一扫 加微信
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

【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 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

③ 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%甲醇提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），若有损失需用 80%甲醇定容至 1mL。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。

2. 检测步骤：

① 分光光度计预热 30min 以上（等待仪器过自检程序亦可），调节波长至 734nm，无水乙醇调零。

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。

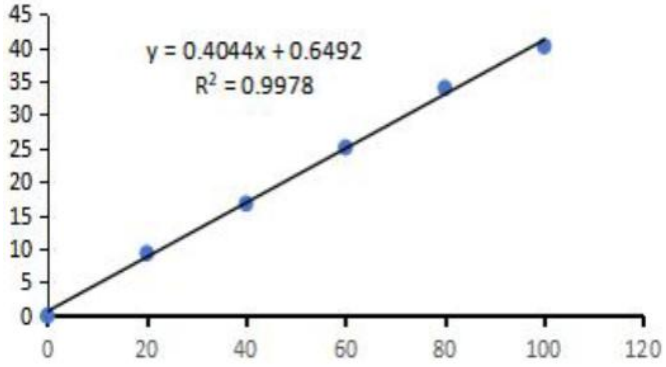
③ 在 EP 管中依次加入：

试剂组分（μL）	测定管	对照管	空白管（仅做一次）
样本	50	50	
无水乙醇		950	50
工作液	950		950
混匀，室温（25°C）避光静置 6min，转移全部液体至玻璃比色皿（光径 1cm）中，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。

结果计算：

1. 标准曲线：y =0.4044x + 0.6492，x 是标准品 Trolox 质量（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. 按样本质量计算：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/g 鲜重)=[(清除率-0.6492)÷0.4044×V1]÷(V1÷V×W)×D

=2.47×(清除率-0.6492)÷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)=[(70-0.6492)÷0.4044×V1]÷(V1÷V×W)×D

5. 按蛋白含量计算：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/mg prot)=[(清除率-0.6492)÷0.4044×V1]÷(V1÷V×Cpr)×D

=2.47×(清除率-0.6492)÷Cpr×D

举例：若清除率是 70%，则用 70 代入公式计算，即：

扫一扫 加微信

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

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/mg prot)=[(70-0.6492)÷0.4044×V1]÷(V1÷V×Cpr)×D

6. 液体样本：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/mL)=[(清除率-0.6492)÷0.4044]×D

=2.47×(清除率-0.6492)×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)=[(70-0.6492)÷0.4044]×D

7. 按细菌或细胞数量计算：

ABTS 自由基清除能力(μg Trolox/10^4cell)=[(清除率-0.6492)÷0.4044×V1]÷(V1÷V×500)×D

=2.47×(清除率-0.6492)÷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)=[(70-0.6492)÷0.4044×V1]÷(V1÷V×500)×D

V---加入提取液体积，1mL； V1---反应中样品体积，50μL=0.05mL；

W---样品质量，g； 500---细菌或细胞总数，万；

Trolox 分子量---250.29； D---稀释倍数，未稀释即为 1；

Cpr---上清液蛋白浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 标曲为非必做实验，用户可根据实验需求制作标曲，亦可直接采用说明书计算公式进行结果计算。
2. 称取 2mg 标准品至一新 EP 管，再加 2mL 甲醇充分溶解，即得到 1mg/mL 标准品母液；
3. 将母液用甲醇稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0，20，40，60，80，100. μg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。
4. 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 100μL，加入 900μL 甲醇，混匀得到 100μg/mL 的标品稀释液						
标品浓度 μg/mL	0	20	40	60	80	100
标品稀释液 μL	0	40	80	120	160	200
甲醇 μL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

5. 依据测定管的加样表操作，根据结果，计算各标品的清除率%，以标准品 Trolox 质量（μg/mL）为 x，清除率%为 y，过 0 点制作标准曲线。

试剂组分（μL）	标准管	0 浓度管（仅做一次）
标品	50	
无水乙醇		50
工作液	950	950
混匀，室温（25°C）避光静置 6min，转移全部液体至玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 734nm 处读取吸光值 A。		

扫一扫 加微信

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