

ABTS 自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1930

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

适用样本：动植物组织、细胞、提取物或药物、红酒或果汁等液体样本

产品简介

抗氧化剂是一类能够中和自由基活性，中断链式氧化反应的物质。抗氧化能力指的是样品中所含的抗氧化剂中和自由基、延缓或抑制其他物质被氧化的能力。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。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本 ABTS 自由基清除能力。其原理是 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 405nm 或 734nm 处具有特征吸收峰，抗氧化物存在时会抑制 ABTS 自由基的生成使反应体系褪色，405nm 处吸光值随之下降，在一定范围内吸光值的变化与自由基被清除的程度成正比，通过吸光值的下降程度即可表征样本的 ABTS 自由基清除能力，并提供 Trolox 作为对照体系量化抗氧化物质的清除能力。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	25mL	50mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃避光保存
试剂三	100 μL	200 μL	4℃避光保存
试剂四	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃避光保存
Trolox 标准品	0.5mL	0.5mL	-20℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 405nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型，使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前每支加入 0.75mL 去离子水，充分溶解；用不完的试剂分装-20℃避光保存 4 周，避免反复冻融。

试剂三工作液：临用前根据样本量按试剂三：去离子水=1：79 的比例（即 80 倍）配制试剂三工作液，现用现配，尽量在 4h 内用完。

试剂四工作液：临用前每支加入 0.25mL 去离子水，充分溶解作为母液；用不完的母液分装-20℃避光保存 6 个月，避免反复冻融。根据样本量按试剂四母液：试剂一 = 1:39 的比例（即 40 倍）配成试剂四工作液，现用现配。

产品说明书

ABTS 工作液：临用前根据实验所需量按试剂一：试剂二：试剂三工作液=76:5:4 的比例配成 ABTS 工作液，现用现配，避光保存，务必在 30 分钟内使用。

标准品：20mM Trolox 溶液，-20℃避光保存。

标准曲线设置：按下表所示，用提取液进一步稀释标准品。

标准品编号	20 mM Trolox 溶液体积 (μL)	提取液体积 (μL)	标准品终浓度 (μM)
1	10	190	1
2	8	192	0.8
3	6	194	0.6
4	4	196	0.4
5	2	198	0.2
6	1	199	0.1

样本制备

动物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液捣碎，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中，10,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

细胞：收集 5×10^6 个细胞，用冷 PBS 清洗细胞后，离心后弃上清，加入 1mL 预冷的提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

红酒、果汁等液体样本：取 0.1mL 样本加入 1mL 提取液，混匀。10,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

提取物或药物：可用提取液配成一定浓度，如：5mg/mL

注意：1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

2. 不能用 EDTA 作为血浆样品的抗凝剂。样品中也不能含有 DTT、巯基乙醇、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。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 405nm，可见光分光光度计无水乙醇调零。

2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔 (μL)	空白对照孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)	标准孔 (μL)
样本	0	0	10	10	0
标准液	0	0	0	0	10
提取液	10	10	0	0	0
试剂四工作液	20	0	20	0	20
ABTS 工作液	170	170	170	0	170
试剂一	0	20	0	190	0

充分混匀，室温避光静置反应 6min，于 405nm 测定吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ； $\Delta A_{\text{空}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}$ ； $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白对照}}$ （空白和标准曲线只需做 1 次）

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果清除率大于 90%，样本可用提取液进一步稀释；清除率小于 5%，建议加大样本量。

结果计算

1. ABTS 自由基清除率计算公式:

样本 ABTS 自由基清除率 $D_s\% = (\Delta A_{\text{空}} - \Delta A_{\text{测}}) / \Delta A_{\text{空}} \times 100\%$

Trolox 标准品 自由基清除率 $D_{TR}\% = (\Delta A_{\text{空}} - \Delta A_{\text{标}}) / \Delta A_{\text{空}} \times 100\%$

2. ABTS 自由基清除能力计算:

(1) 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 y 轴, $D_{TR}\%$ 为 x 轴, 绘制标准曲线 (浓度为 y 轴更方便计算结果)。将样本 ABTS 自由基清除率 ($D_s\%$) 带入公式中得到 y ($\mu\text{mol/L} = \mu\text{mol/mL}$), 即为待测样本 ABTS 清除能力的 Trolox 等效量化值。

(2) 按样本质量计算:

ABTS 自由基清除能力 ($\mu\text{mol/g}$ 质量) $= y \times V_{\text{提取}} \div W \times n = y \div W \times n$

(3) 按液体体积计算:

ABTS 自由基清除能力 ($\mu\text{mol/mL}$) $= y \times n$

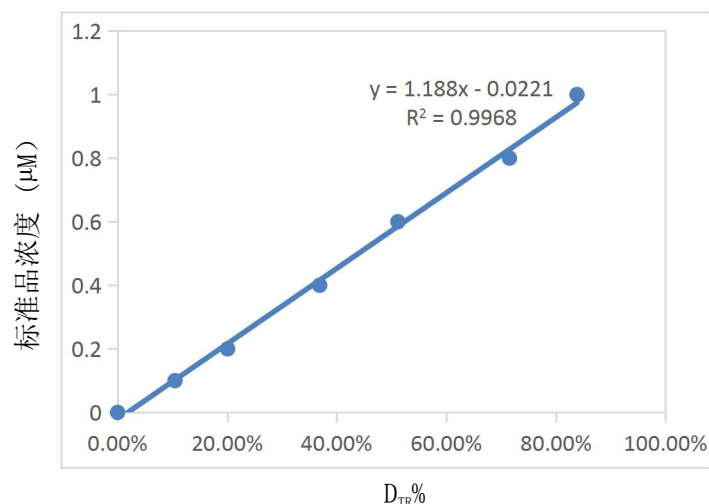
(4) 按细胞数量计算:

ABTS 自由基清除能力 ($\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}$) $= y \times V_{\text{提取}} \div 500 \times n = y \div 500 \times n$

$V_{\text{提取}}$: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞数量, 500 万; n: 样本稀释倍数。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1052 羟自由基清除能力检测试剂盒 (微量法)

PMK1036 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1061 超氧阴离子清除能力检测试剂盒 (微量法)

PMK1929 DPPH 自由基清除能力检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解, 请关注公众号: