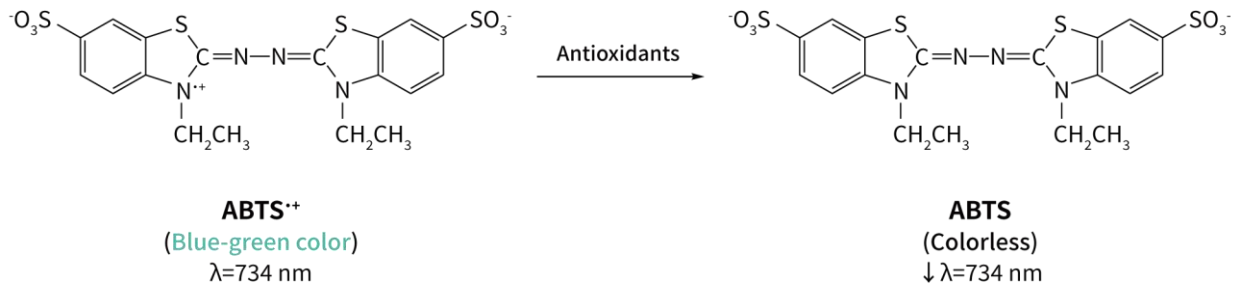


OxiTec™ ABTS Antioxidant Capacity Assay Kit

(Colorimetric)

BO-ABTS-100, 100 assays

제품 원리



BIOMAX 사의 OxiTec™ ABTS Antioxidant Capacity Assay Kit는 ABTS^{•+} 라디칼이 항산화 물질에 의해 환원되면서 흡광도가 감소하는 원리를 이용하여 시료의 항산화 능력을 정량적으로 측정합니다. Antioxidant(Vit C or Trolox)는 녹색-청색의 안정된 ABTS^{•+} 라디칼을 환원시켜 용액의 탈색을 일으키며, 이는 734 nm에서 흡광도 감소로 측정됩니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
ABTS Reagent A	500 μl $\times$ 2 vials	-20°C
ABTS Reagent B(Diluent)	30 ml	
Trolox Standard (10 mM)	2 vials	
Vitamin C Standard (100 mM)	100 μl	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20°C 보관 시 약 1년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ Colorimetric microplate reader (734 nm Filter)
- ▶ 96-well Microplate (clear, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ 8 or 12 Channel micropipette
- ▶ Microtube / 15 or 50 ml conical tube
- ▶ Sonicator / Homogenizer
- ▶ Vortexer / mini centrifuge
- ▶ Distilled or deionized water / Ethanol

실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- 제품의 모든 구성품은 상온에서 완전히 녹인 후 사용합니다.
- Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.
- 빛이 차단된 상태로 보관합니다.

ABTS working solution

ABTS reagent A와 B를 섞은 용액이 734nm에서 흡광도가 약 0.7 ± 0.02 이 되도록 희석합니다.

이 값은 Reagent A: Reagent B를 대략 1:25-30으로 희석하여 얻습니다. 빛 차단에 유의하여 희석 후 30분 이내에 소진합니다.

* Reagent A의 각 vial은 50 assay 가능하며, 개봉 후 냉장 보관 시 약 24 시간까지 안정적입니다.

Trolox Standard solution

Trolox Standard 1 vial에 Ethanol 1 ml를 첨가하여 inverting 합니다. (Vortexing 하지 않습니다)

실험하기 직전에 희석하여 사용하고 희석된 Standard solution은 24 h 이내에 사용합니다.

Ascorbic Acid solution

사용 후 -20°C 에 보관할 수 있으며 쉽게 산화될 수 있으니 빛 차단에 유의하여 사용합니다.

2 개월 이내에 사용합니다.

* 이 키트는 서로 다른 특성을 가진 항산화제(Trolox 또는 Vitamin C)를 표준물질로 제공하며, 시료의 성질에 따라 적합한 표준물질로 적용 가능합니다.

Sample preparation

- * 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행한 후 사용을 권장합니다.
- * 높은 Background를 갖는 시료의 경우 측정에 사용한 동일한 양의 시료를 Background control로 준비합니다.
- * 모든 Sample의 온도를 낮게 유지하고 산소, 빛, 열 등에 의해 영향을 받을 수 있으므로 30분 안에 준비합니다.
- * 샘플 내 환원시약(Dithiothreitol, 2-Mercaptoethanol, EDTA, SDS, Tween-20 및 Triton 등)이 포함되지 않도록 준비합니다.

Urine

원심 분리하여 얻은 상층액을 PBS(pH 7.4)로 적절한 희석 후 분석합니다.

Serum / Plasma

샘플이 탁할 경우, 원심분리 후 분석합니다. Plasma 샘플은 항응고제로 헤파린 사용을 권장합니다.

Tissue

4 °C에서 보관한 PBS(pH 7.4)를 넣고 Ice에서 Homogenization(균질화)한 후 원심 분리하여 상층액만 분석합니다.

Cell

4 °C에서 보관한 PBS(pH 7.4)로 세척 후 Ice에서 Homogenization(균질화) 또는 Sonication 후 원심 분리하여 상층액만 분석합니다.

Food / Beverages

샘플에 따라 여과 또는 추출단계가 필요합니다.

Standard preparation

Trolox Standard

10 mM Trolox standard solution을 Ethanol에 1:10으로 희석(Trolox 100 μ l+Ethanol 900 μ l)하여 1 mM Trolox standard solution을 준비합니다. 1 mM Trolox standard solution으로 1.5 ml Microtube에 아래 표와 같이 Standard solution을 준비합니다.

* 친유성 샘플을 분석할 경우, standard solution 준비(아래 표)는 D.W. 대신 Ethanol로 대체 가능합니다.

Standard	Vol. of 1 mM STD (μ l)	D.W. (μ l)	TEAC* (μ M)
1	0	100	0
2	10	90	100
3	15	85	150
4	20	80	200
5	30	70	300
6	40	60	400
7	50	50	500
8	60	40	600

* Antioxidant activity is expressed as TEAC (Trolox equivalents antioxidant capacity).

* 매 실험마다 Standard curve를 새로 그리십시오.

Vitamin C Standard

Vitamin C Standard solution을 D.W.에 1:100으로 희석(Vitamin C 10 μ l+D.W. 990 μ l)하여 1 mM Vitamin C standard solution을 준비합니다. 1 mM Vitamin C standard solution으로 1.5 ml Microtube에 아래표와 같이 Standard solution을 준비합니다.

Standard	Vol. of 1 mM STD (μ l)	D.W. (μ l)	CEAC* (μ M)
1	0	100	0
2	10	90	100
3	15	85	150
4	20	80	200
5	30	70	300
6	40	60	400
7	50	50	500
8	60	40	600

* Antioxidant activity is expressed as CEAC (Vitamin C equivalents antioxidant capacity).

* 매 실험마다 Standard curve를 새로 그리십시오.

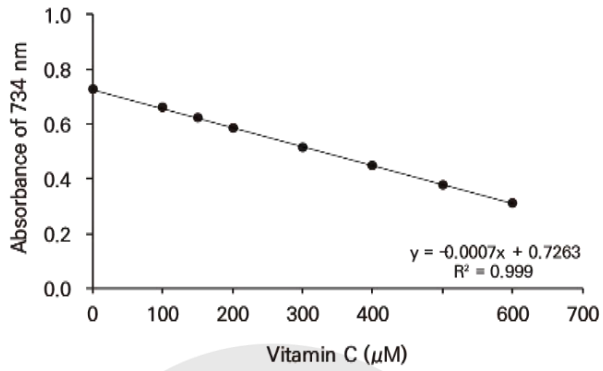
실험 과정

- Standard는 실험할 때마다 새로운 Standard solution으로 희석하여 사용하며 희석한 Standard solution은 재사용하지 마십시오.
 - Duplicate 또는 Triplicate를 권장합니다.
 - ABTS Working Solution의 흡광도가 734 nm에서 약 0.7 ± 0.02 인지 확인하십시오.
- ① 준비된 standard, sample을 10 μ l씩 96-well Microplate에 분주합니다.
 - ② Sample well과 Standard well에 준비한 ABTS working solution을 190 μ l씩 넣고 잘 섞어줍니다.
 - ③ 빛을 차단한 후 상온에서 5 분간 반응시킵니다.
 - ④ Microplate reader로 734 nm에서 흡광도를 측정합니다.

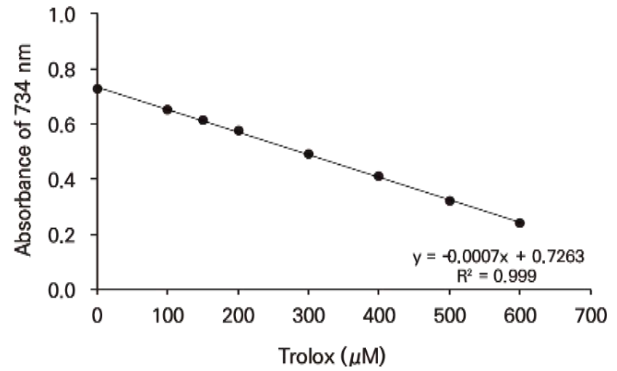


결과 분석

- Standard 및 Sample의 각 well의 측정값에 대한 평균값을 구합니다.
- 결과값의 정확성과 재현성 확인을 위해 표준곡선의 R²이 0.98이상이 되도록 합니다.



Vitamin C standard curve



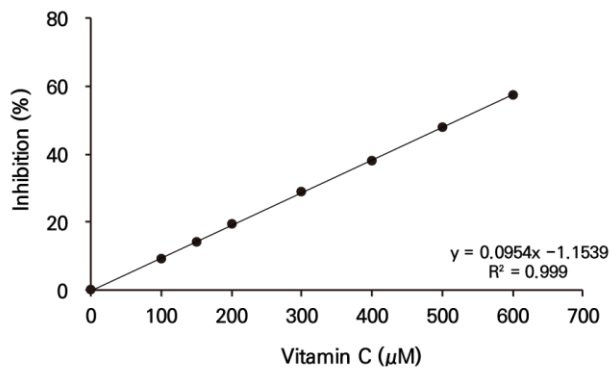
Trolox standard curve

$$\text{Inhibition of } A_{734nm} (\%) : \{1 - (A_{std} \text{ or } A_s / A_0)\} \times 100$$

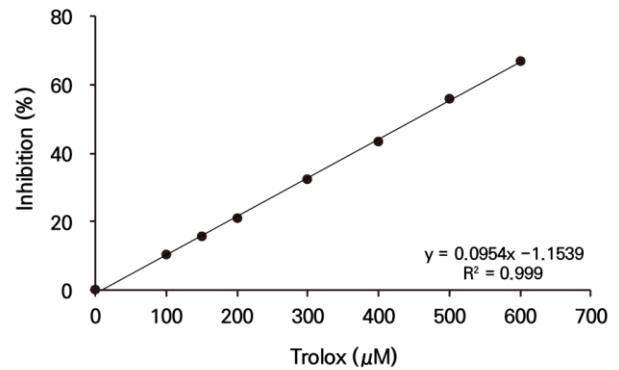
A_0 : Abs of 0 μM Trolox / Vitamin C

A_{std} : Abs of 100~600 μM Standard solution

A_s : Abs of sample



Inhibition of Vitamin C (%)



Inhibition of Trolox (%)

$$TEAC \text{ or } CEAC(\mu M) = (\% \text{ Inhibition of Sample} - \text{절편}) / \text{기울기}$$

* 기울기 및 절편 값은 Standard-Inhibition(%)의 표준 곡선에서 얻습니다.

(예시) $y = ax + b$

% Inhibition of sample = 23,

절편(b) = -1.1539

기울기(a) = 0.0954 라면,

$$\begin{aligned} TEAC \text{ or } CEAC(\mu M) &= (23 + 1.1539) / 0.0954 \\ &= 253.2 \mu M \end{aligned}$$

Related products

- BO-ROS-RD200	OxiTec™ Cellular ROS Detection Kit(H ₂ DCFDA) (Fluorometric)
- BO-ROS-SH200	OxiTec™ Cellular ROS Detection Kit(DHE) (Fluorometric)
- BO-TAC-200	OxiTec™ Total Antioxidant Capacity Assay Kit (Colorimetric)
- BO-TBR-200	OxiTec™ TBARS Assay Kit (Colorimetric)
- BO-GLU-200	OxiTec™ Glutathione(GSH/GSSG/Total) Assay Kit (Colorimetric)
- BO-SOD-250/500	OxiTec™ SOD Assay Kit (Colorimetric)
- BO-PER-500	OxiTec™ Hydrogen Peroxide/peroxidase Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BO-DPH-200/500	OxiTec™ DPPH Antioxidant Assay Kit (Colorimetric)
- BO-CAT-400	OxiTec™ Catalase Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.



Homepage : www.biomax.com

Shopping mall : www.biomaxmall.com

E-mail : info@scgbiomax.com

Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Note