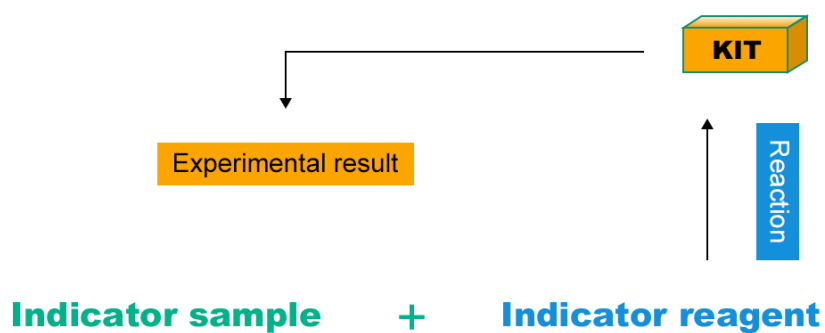


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0880

Size: 100T/48S

ABTS 自由基清除能力检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定，（如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测）。

一、测定意义：

ABTS 法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。

二、测定原理：

ABTS 经氧化后生成稳定的蓝绿色阳离子 ABTS 自由基，在 405nm 或 734nm 处有最大吸收峰。被测物质加入 ABTS 自由基溶液后，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，405nm 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。本试剂盒中，通过测定吸光度下降的程度来反映样本清除 ABTS 自由基的能力。

三、需自备的仪器和用品：

恒温水浴锅、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、台式离心机、研钵/粉碎机、烘干箱、30~50 目筛和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 80 mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 40 mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1 支	4℃保存	
试剂三	液体 20 μL×1 支	4℃保存	
试剂四	液体 1.5 mL×1 支	-20℃保存	
试剂五	粉剂×1 支	4℃保存	

五、溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 1 mL 蒸馏水，充分溶解；用不完的试剂可分装 -20°C 保存， -20°C 可保存两周；
- 2、试剂三工作液的配制：液体置于棕色试剂瓶中EP 管内，临用前根据样本量按试剂三（ μL ）蒸馏水（mL）=1 μL :12mL 的比例配成试剂三工作液，现用现配，用不完的试剂放于 4°C 保存；
- 3、试剂四工作液的配制：可先将试剂四 -20°C 分装保存。临用前根据样本量按试剂四：试剂一（V:V）=1:9 的比例配成试剂四工作液，现配现用，用不完的试剂放于 -20°C 可保存两周。
- 4、试剂五：粉剂置于试剂瓶内EP 管中，含有5mg 维生素C，临用前加入 2.8mL 提取液，充分振荡溶解；配成10mmol/L 维生素C 溶液，用于阳性对照。 4°C 可保存一周。
- 5、ABTS 工作液的配制：临用前根据试验所需量按试剂一：试剂二：试剂三工作液（V:V:V）=76:5:4 的比例配成 ABTS 工作液，现用现配，室温避光保存，务必在 30 分钟内使用。

六、操作步骤：

● 样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 1、植物组织样本的制备：将新鲜样品置于 60°C 烘箱烘干至恒重，研钵研碎（或粉碎机粉碎），过 30~50 目筛；称取约 0.05g 样本，加入 1mL 提取液后置于 40°C 水浴锅中浸提 30min；10000rpm 室温离心 10 min，取上清，置于冰上待测。
- 2、红酒、果汁等液体样本：吸取 100 μL 样本溶液加入 900 μL 提取液，旋涡振荡混匀，室温 10000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 3、提取物或者药物：可用提取液配制成一定浓度，如 5mg/mL。

注意：不同样本清除 ABTS 自由基的能力可能相差很大，为保证实验结果的准确性，样本要根据预实验结果进行适当调整（如清除率大于 90%，建议将提取的样本用提取液进行稀释；清除率小于 5%，建议加大烘干样本质量或液体样本体积进行提取）。

● 测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。
2. 阳性对照的准备：若需要线性关系，建议将 10mmol/L 的维生素 C 溶液用提取液配制成 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1 mg/mL 的维生素 C 溶液待用；若需要清除率约为 90% 的阳性对照，则建议将 10 mmol/L 维生素 C 溶液用提取液配制成大于 1mmol/L 的维生素 C 溶液待

用。

3. 操作表：在 96 孔板或 EP 管中分别加入下列试剂：

试剂名称 (μL)	空白管	测定管	对照管	阳性对照管
上清液		10	10	
不同浓度的 VC 溶液				10
水	10			
试剂四工作液	20	20		20
ABTS 工作液	170	170		170
试剂一			190	

充分混匀后室温避光静置 6min。测定 405nm 处的吸光度。空白管、对照管、标准管和测定管的吸光值分别记为 A 空白、A 对照、A 阳性对照和 A 测定。空白管只需测 1-2 次。

七、ABTS 自由基清除率的计算

1. 标准曲线的建立：

阳性对照的自由基清除率计算公式：

$$\text{ABTS 自由基清除率 } D_{vc}\% = [(A \text{ 空白} - A \text{ 阳性对照}) \div A \text{ 空白}] \times 100\%$$

2. 样本的自由基清除率计算公式：

$$\text{ABTS 自由基清除率 } D\% = [A \text{ 空白} - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照})] \div A \text{ 空白} \times 100\%。$$

八、注意事项：

1、不同样本清除 ABTS 自由基的能力可能相差很大，如果要比较不同样品的 ABTS 自由基清除能力，建议对于同一批样品加入等量的样品，红酒、组织匀浆、果汁等液体样品加入同样体积，提取物（或者药物）配制成同样浓度。在比较时，将样本根据预实验结果进行适当调整，比较同样浓度（相同稀释倍数）的清除率大小。

2、样品建议当天提取当天检测。