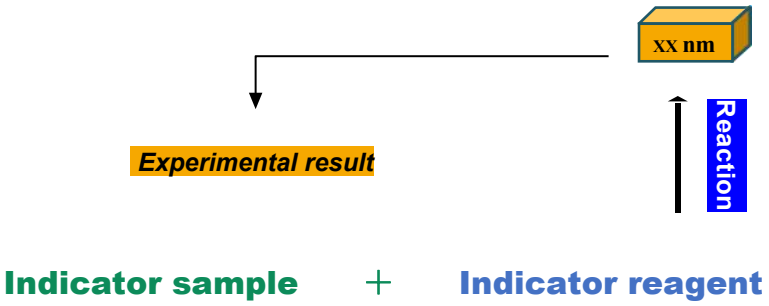
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0893 规格：50管/24样

ABTS 自由基清除能力检测试剂盒说明书
可见分光光度法

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。

产品内容： 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致， 有疑问请及时联系工作人员。

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 80 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	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	-

溶液的配制：

1、 试剂二：临用前加入 3 mL 蒸馏水，充分溶解；用不完的试剂可分装-20℃保存， -20℃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:12 mL 的比例配成试剂三工作液，现用现配，用不完的试剂放于 4℃保存；

3、 试剂四工作液的配制： 可先将试剂四-20℃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。

4、 试剂五：粉剂置于试剂瓶内 EP 管中，含有 5 mg 维生素 C。临用前加入 2.8 mL 提取液，充分振荡溶解； 配成 10 mmol/L 维生素 C 溶液，用于阳性对照。 4℃可保存一周。

5 、ABTS 工作液的配制： 临用前根据样本量按试剂一： 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

产品说明：

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。 ABTS 经氧化后生成稳 定的蓝绿色阳离子 ABTS 自由基， 在 405 nm 或 734 nm 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， 405 nm 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。

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。

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。

操作步骤：

一、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℃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 0.05 g 样本， 加入 1 mL 提取液后置于 40℃水浴锅中浸提 30 min；10000 rpm 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 10000 rpm 离心 10 min， 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 5 mg/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）。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm，蒸馏水调零。

2. 阳性对照的准备： 若需要线性关系， 建议将 10 mmol/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 1.5 mmol/L 的维生素 C 溶液待用。

3. 操作表：在 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		50	50	
不同浓度的VC溶液				50
水	50			
试剂四工作液	100	100		100
ABTS 工作液	850	850		850
试剂一			950	
充分混匀后室温避光静置 6 min。测定 405 nm 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。				

三、 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：

ABTS 自由基清除率 DVC%=[(A 空白-A 阳性对照)÷A 空白]×100%

2. 样本的自由基清除率计算公式：

ABTS 自由基清除率D% =[A 空白-(A 测定-A 对照)]÷A 空白×100%。

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。