

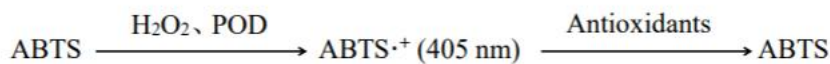
## ABTS自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1868

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

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。



**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。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体80mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体20μL×1支	2-8℃
试剂四	液体1.5mL×1支	-20℃
试剂五	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入1mL蒸馏水，充分溶解；用不完的试剂可分装后保存，-20℃可保存四周，避免反复冻融；
2. 试剂三工作液的配制：液体置于试剂瓶内EP管中。临用前根据样本量按试剂三（μL）：蒸馏水（mL）=1μL：12mL的比例配成试剂三工作液，现用现配，用多少配多少，尽量在4h之内用完；
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，用不完的试剂放于-20℃可保存两周。
4. 试剂五：粉剂置于试剂瓶内玻璃瓶中，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。2-8℃可保存两周。
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。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、恒温水浴锅、台式离心机、研钵/粉碎机、烘干箱、30~50目筛、冰、蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

1. 植物组织样本的制备：将新鲜样本置于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0.05g样本，加入1mL提取液后置于40℃水浴锅中浸提30min；10000rpm室温离心10min，取上清，置于



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

冰上待测。

2. 红酒、果汁等液体样本：吸取100μL样本溶液加入900μL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）。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至405nm，分光光度计用蒸馏水调零。
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、0.1mmol/L的维生素C溶液待用，稀释可参考下表；若需要清除率约为90%的阳性对照，则建议将10mmol/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。

序号	稀释前浓度 (mmol/L)	维生素 C 溶液体积 (μL)	提取液体积 (μL)	稀释后浓度 (mmol/L)
1	10	100	900	1
2	1	160	40	0.8
3	1	120	80	0.6
4	1	80	120	0.4
5	1	40	160	0.2
6	1	20	180	0.1

备注：实验中每个标准管需 10μL 维生素 C 溶液。

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
蒸馏水	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，室温避光静置 6min。测定 405nm 处的吸光度。分别记为 A 空白、A 测定、A 对照、A 阳性对照，阳性对照标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

## 三、ABTS 自由基清除率的计算

1. 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：

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

### 注意事项：

1. 不同样本清除 ABTS 自由基的能力可能相差很大，如果要比较不同样本的 ABTS 自由基清除能力，建议对于同一批样本加入等量的样本，红酒、组织匀浆、果汁等液体样本加入同样体积，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. 样本建议当天提取当天检测。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

**实验实例：**

1. 取 0.05g 辣椒加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，离心取上清后按照测定步骤操作，计算清除率得：  
 $D\% = [A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})] \div A_{\text{空白}} \times 100\% = [1.111 - (0.365 - 0.061)] \div 1.111 \times 100\% = 72.637\%$ 。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**  
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号  
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866  
邮箱：zzlybio@126.com