

ABTS自由基清除能力检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHA6-M48	ABTS自由基清除能力检测试剂盒	48T	微量法
AYHA6-M96		96T	

一、测定意义：

ABTS 法作为测定自由基清除能力使用最广泛的间接检测法，可用于亲水性和亲脂性物质抗氧化能力的测定，通过体系褪色程度即可反映抗氧化物质的清除能力，在抗氧化类食品、保健品及药品抗氧化活性的分析和筛选过程中具有广泛应用。

二、测定原理：

ABTS 在氧化剂作用下被氧化为稳定的蓝绿色阳离子 ABTS 自由基，在 734 nm 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，734nm 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 作为阳性对照量化抗氧化物质的清除能力。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 40mL×1 瓶	液体 80mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 2mL×1 瓶	液体 4mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2mL×1 瓶	液体 4mL×1 瓶	2-8℃保存
工作液的配置：将试剂二、试剂三按 1：1 比例混合均匀，用试剂四将混合液稀释 10 倍，现用现配。			
标准品	液体 1mL×1 瓶	液体 1mL×1 瓶	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎机冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、细菌/细胞：按照细胞数量（10⁴ 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接检测，若浑浊离心取上清。

测定步骤

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至734nm，蒸馏水调零；
- 测定前将10mmol/L标准品用提取液稀释成1.5、1.2、0.9、0.6、0.3、0.15mmol/L Trolox 溶液备用；

3. 操作表（在96孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样品（ μL ）	20	20	-	-
Trolox 溶液（ μL ）	-	-	20	-
双蒸水（ μL ）	-	-	-	20
试剂一（ μL ）	-	180	-	-
工作液（ μL ）	180	-	180	180

充分混匀，室温避光反应 5min，在波长 734nm 处读取吸光值，记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{标准}}$ 。注：标曲和空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

五、ABTS 自由基清除能力计算：

1、待测样本自由基清除能力计算公式：

$$\text{ABTS 自由基清除率} (D_{\text{样本}}\%) = (A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{测定}}) \div A_{\text{空白}} \times 100\%$$

2、Trolox 溶液自由基清除率计算公式：

$$\text{ABTS 自由基清除率} (D_{\text{Trolox 溶液}}\%) = \Delta A_{\text{标准}} \div A_{\text{空白}} \times 100\%$$

3、标准曲线的建立：

以 1.5、1.2、0.9、0.6、0.3、0.15mmol/L 标准液浓度为横坐标（x），以其对应的 ABTS 自由基清除率（ $D_{\text{Trolox 溶液}}\%$ ）为纵坐标（y），绘制拟合曲线，即可得到线性方程 $y=kx+b$ ，将样本 ABTS 自由基清除率（ $D_{\text{样本}}\%$ ）带入公式中得到 x（mmol/L），即为待测样本 ABTS 清除能力的 Trolox 等效量化值。

六、 注意事项：

- 1、样品提取过程建议在冰上完成操作，且提取后应当天完成测定；
- 2、若待测样本 ABTS 自由基清除率（ $D_{\text{样本}}\%$ ）大于 90%，建议将待测样本使用提取液稀释后再进行测定；若待测样本 ABTS 自由基清除率（ $D_{\text{样本}}\%$ ）小于 5%，建议适当增加烘干样本质量或液体样本体积重新提取后再进行测定，计算时相应修改；
- 3、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。