

**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
PMHG7-M48	ABTS自由基清除能力检测试剂盒	48T	微量法
PMHG7-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
<b>工作液的配置：</b> 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**

植物组织提取液的制备：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仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

**测定步骤**

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至734nm，蒸馏水调零；
2. 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（ $\mu\text{L}$ ）	20	20	-	-
Trolox 溶液（ $\mu\text{L}$ ）	-	-	20	-
双蒸水（ $\mu\text{L}$ ）	-	-	-	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 <sub>测定</sub> 、A <sub>对照</sub> 、A <sub>标准</sub> 和 A <sub>空白</sub> ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{空白} - A_{标准}$ 。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<sub>Trolox 溶液</sub>%) 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<sub>样本</sub>%) 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<sub>样本</sub>%) 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<sub>样本</sub>%) 小于 5%，建议适当增加烘干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。