

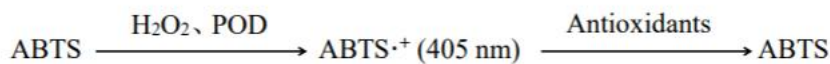
## ABTS自由基清除能力检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1869

产品规格：50管/24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60mL×1瓶  | 2-8℃ |
| 试剂一  | 液体80mL×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3mL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）=1 μL：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、1mL玻璃比色皿、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；



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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，置于冰上待测。

2. 红酒、果汁等液体样本：吸取100μL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）。

## 二、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、0.1mmol/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1.5mmol/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 50μL 维生素 C 溶液。

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    |
| 蒸馏水         | 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，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：

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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.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：  
 $D\% = [A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})] \div A_{\text{空白}} \times 100\% = [1.330 - (0.468 - 0.022)] \div 1.330 \times 100\% = 66.466\%$ 。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>