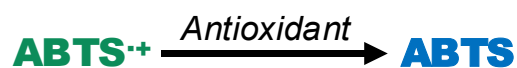




ABTS 自由基清除能力检测试剂盒
ABTS Free Radical Scavenging Ability Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



ABTS 自由基清除能力检测试剂盒

ABTS Free Radical Scavenging Ability Assay Kit

一、产品描述

ABTS 法作为测定自由基清除能力使用最广泛的间接检测方法，在抗氧化能力的测定中具有重要地位，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。

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 405 nm 或 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，405 nm 处吸光值随之下降低，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。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C 避光保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融)
试剂三	液体 50 μL×3 支	4°C 避光保存	使用前每支试剂三加入 8 mL 蒸馏水充分溶解 (即为试剂三应用液，配制后 4°C 可保存 2 周)
试剂四	液体 8 mL×1 瓶	4°C 保存	按照试剂三应用液:试剂四=1:50 的体积比配制 (即为试剂四应用液，根据使用量现用现配)
试剂五	液体 500 μL×1 支	-20°C 避光保存	按照试剂五:试剂一=1:9 的体积比配制 (即为试剂五应用液，根据使用量现用现配)
试剂六	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 1 mL 提取液充分溶解 (即为 20 mmol/L Trolox 溶液)
ABTS 工作液的制备 (配制后 30 min 内有效): 使用前按照试剂一: 试剂二: 试剂四应用液=76:5:4 的体积比配制，充分混匀后即为 ABTS 工作液，根据使用量现用现配。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、烘箱和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①植物样本：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），称取 50 mg 处理后样本，加入 1 mL 提取液充分混匀，40℃浸提 30 min，10000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

②液体样本：吸取 100 μ L 液体样本加入 900 μ L 提取液，旋涡振荡充分混匀，10000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

③提取物或者药物：取适量提取物或药物，使用提取液配制为一定浓度的待测样本。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm。

②Trolox 阳性对照（TR）的设置：若需要 Trolox 阳性对照量化关系，建议将试剂六（20 mmol/L Trolox 溶液）使用提取液稀释至 1.0、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1 mmol/L 即为 Trolox 稀释液；注：若需清除率约为 100%的阳性对照，建议将试剂六使用提取液配制至大于 1.0 mmol/L 的 Trolox 稀释液。

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（mmol/L）	20	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Trolox 溶液体积（ μ L）	50	160	120	80	40	20
提取液体积（ μ L）	950	40	80	120	160	180
稀释后浓度（mmol/L）	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1

③在 96 孔板中依次加入下列试剂：（在避光条件下进行）

试剂	测定组 （ μ L）	对照组 （ μ L）	TR 组 （ μ L）	空白组 （ μ L）
待测样本	10	10	-	-
Trolox 稀释液	-	-	10	-
蒸馏水	-	-	-	10
试剂一	-	190	-	-
试剂五应用液	20	-	20	20
ABTS 工作液	170	-	170	170
充分混匀，室温避光准确反应 6 min				

吸光值测定：测定 405 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A TR 和 A 空白。注：每个样本均需设一个对照组，各浓度 TR 组和空白组只需测定 1-2 次。

3.ABTS 自由基清除能力计算

①待测样本自由基清除率计算公式

$$\text{ABTS 自由基清除率 (D}_S\%) = \frac{A \text{ 空白} - (A \text{ 测定} - A \text{ 对照})}{A \text{ 空白}} \times 100\%$$

②Trolox 阳性对照组自由基清除率计算公式

$$\text{ABTS 自由基清除率 (D}_{TR}\%) = \frac{(A \text{ 空白} - A_{TR})}{A \text{ 空白}} \times 100\%$$

4.Trolox 量化曲线的建立

以 1.0、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1 mmol/L Trolox 稀释液浓度为横坐标 (x)，以其对应的 ABTS 自由基清除率 (D_{TR}%) 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_S%) 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。

四、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_S%) 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_S%) 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试剂四应用液和试剂五应用液配制时，建议最少取 10 μL 进行配制；

④不同样本 ABTS 自由基清除能力可能相差较大，若需要比较不同样本的 ABTS 自由基清除能力，建议对于同一批植物样本加入等量的样本，液体样本加入相同体积，提取物或者药物配制为相同浓度；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；

⑤试剂三配制后有效期短，为便于试验安排，附赠 2 支试剂三作为备用；

⑥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。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

