



## ABTS 自由基清除能力检测试剂盒说明书

规格：48 样      方法：酶标仪法

### 一、注意事项

- 1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。
- 2.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本上清进行预检测。
- 3.本试剂盒仅用于科研。
- 4.试剂二中加入20 mL 蒸馏水/超纯水溶解后，用不完的溶液4°C避光保存 1~2 周。
- 5.工作液现配现用，在 10 min 内完成测定。

### 二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	70 mL×1	4°C	
试剂一	11mL×1	4°C避光	棕色瓶保存
试剂二	粉末×1瓶	4°C避光	棕色瓶保存

### 三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水。

### 四、样品制备

- 1.血清、血浆、唾液或尿液等液体样品直接检测。
- 2、组织样品

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0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，然后 10000 g，4°C离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。

#### 3、细胞样品

按照细胞数量（ $10^4$  个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎（功率 200W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；10000 g，4°C离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。

### 五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 734 nm 处。



2. 工作液的配置：临用前取试剂二 1 瓶，加入 20 mL 蒸馏水/超纯水，根据样本量将试剂一和试剂二按 10: 1 的比例混匀，震荡混匀 30 min 后配制完成。

（注意，现配现用，配制完成后在 10 min 内使用完。）

3.在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	空白管	测定管
提取液（ $\mu\text{L}$ ）	10	-
样本（ $\mu\text{L}$ ）	-	10
工作液（ $\mu\text{L}$ ）	190	190

充分混匀，10 min 内测定 734 nm 处光值 A， $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。注意：空白管只需测定 2~3 次。

## 六、计算：

1、以自由基清除率表示：

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

2、以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量表示

$$\text{标准曲线: } y = 0.8454x - 0.0002, \quad R^2 = 0.9997;$$

x 为标准品 Trolox 浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )，y: 吸光值  $\Delta A$

单位定义：以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量来表示样本的 ABTS 自由基清除能力。

(1) 按样本质量计算

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0002) \div 0.8454 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 1.1829 \times (\Delta A + 0.0002) \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算（需另测蛋白浓度）

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox/mg prot}) = (\Delta A + 0.0002) \div 0.8454 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times C_{\text{pr}}) = 1.1829 \times (\Delta A + 0.0002) \div C_{\text{pr}}$$

(3) 按细胞计算

$$\text{总抗氧化能力 } (\mu\text{mol Trolox}/10^4 \text{cell}) = (\Delta A + 0.0002) \div 0.8454 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) = 1.1829 \times (\Delta A + 0.0002) \div \text{细胞数量 (万个)}$$

(3) 按液体体积计算



总抗氧化能力 ( $\mu\text{mol Trolox/mL}$ ) =  $(\Delta A + 0.0002) \div 0.8454 = 1.1829 \times (\Delta A + 0.0002)$

注: V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; V 样: 反应中样品体积, 10  $\mu\text{L}$ ; W: 样品质量, g; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL。

## 八、产品简介

当生物遭遇胁迫时, 体内会产生过量活性氧。此时, 生物自身的抗氧化系统 (包括超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT 等酶系统和维生素 C、谷胱甘肽等非酶物质) 会被激活以清除活性氧, 保护细胞。通过检测胁迫条件下生物 ABTS 清除能力的变化, 可以直观反映其抗氧化防御系统的强弱, 从而评估其抗逆能力。