ABTS 自由基清除能力检测试剂盒说明书

规格：96 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℃、避光可保存 1-2 周。

5.工作液现配现用，并在 10 min 内使用完。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	120 mL×1	4℃	
试剂一	粉剂×1	4℃避光	临用前加入 20 mL 蒸馏水
试剂二	粉末×1 瓶	4℃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℃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℃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，将试剂一和试剂二按 10：1 的比例混匀，震荡混匀 30 min 后再使用。（注意，现配现用，并在 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（μL）	10	-
样本（μL）	-	10
工作液（μL）	190	190
充分混匀，10 min 内测定 734 nm 处光值，ΔA= A 空白-A 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：

ABTS 自由基清除率（%）=（A 空白-A 测定）÷A 空白×100%

注意：为了比较不同样本 **DPPH** 自由基清除能力，对于同一批样本必须加入等量的样本 ，血清、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。

2、以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的量表示：

标准曲线：y = 0.8454x - 0.0002 ，R^2 = 0.9997；

x 为标准品 Trolox 浓度（μmol/mL），y：吸光值ΔA

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

总抗氧化能力（**μmol Trolox/g** 鲜重）=（ΔA+0.0002）÷0.8454×V 样÷（V 样÷V 样总×W）=1.1829×（ΔA+0.0002）÷W

（2）按样本蛋白浓度计算（需另测蛋白浓度）

总抗氧化能力（**μmol Trolox/mg prot**）=（ΔA+0.0002）÷0.8454×V 样÷（V 样÷V 样总×Cpr）=1.1829×（ΔA+0.0002）÷Cpr

(3) 按细胞计算

总抗氧化能力（**μmol Trolox/10 ^{4}cell**）=（ΔA+0.0002）÷0.8454×V 样÷（V 样÷V 样总×细胞数量（万个））= 1.1829×（ΔA+0.0002）÷细胞数量（万个）

（3）按液体体积计算

总抗氧化能力（**μmol Trolox/mL**）=（ΔA+0.0002）÷0.8454 =1.1829×（ΔA+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 μL；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。