

CheKine™ ABTS 自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1093

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 植物组织、红酒等液体样本
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

测定对象中各种抗氧化物质和抗氧化酶等构成总抗氧化水平。ABTS 法是使用最广泛的间接检测方法, 可用于亲水性和亲脂性物质抗氧化能力测定。

本试剂盒检测原理是 ABTS 经氧化后生成稳定的蓝绿色阳离子自由基 $ABTS^+$, 能溶于水相或酸性乙醇介质中, 在 734 nm 处有最大吸收。被测物质加入 $ABTS^+$ 溶液后, 所含抗氧化成分能与 $ABTS^+$ 发生反应而使反应体系褪色。在 734 nm 检测吸光度的变化, 并以维生素 C 作为对照体系量化抗氧化物质的抗氧化能力。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	100 mL	100 mL×2	4℃
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃, 避光保存
Vitamin C (Positive Control)	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 734 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/95%乙醇	标准品稀释用、检测体系配制用
其他	匀浆器（组织样本）、制冰机、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。
- 对于组织样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前预冷	4℃保存
Reagent I Stock Solution	使用前 24 h 配制；取一瓶 Reagent I 加入 5 mL 去离子水充分溶解；室温避光放置 24 h 后使用；	用不完的试剂 4℃避光可保存三天； Reagent I 量少，肉眼不可见，请勿倾倒，溶解后为黑绿色溶液
Working Reagent I	临用前配制；根据用量，将 Reagent I Stock Solution 用 95 %乙醇稀释 50 倍	现配现用，在 30 min 内使用
Vitamin C Working Reagent (Positive Control)	临用前配制；加入 1 mL 去离子水，充分溶解，配制成 10 mg/mL 的维生素 C 溶液	4℃避光可保存两周，用于阳性对照

05-1-2 标准品配制

取 10 mg/mL 的 Vitamin C Working Reagent 用去离子水稀释 10 倍成 1 mg/mL，然后配制成 0.1、0.05、0.025、0.0125、0.0063、0.0031、0.0016 mg/mL 的维生素 C 溶液待用，按下表所示，进行下一步稀释。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	维生素 C 溶液体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (mg/mL)
1	50 μL of 1 mg/mL	450	0.1
2	200 μL of 0.1 mg/mL	200	0.05
3	200 μL of 0.05 mg/mL	200	0.025
4	200 μL of 0.025 mg/mL	200	0.0125
5	200 μL of 0.0125 mg/mL	200	0.0063
6	200 μL of 0.0063 mg/mL	200	0.0031
7	200 μL of 0.0031 mg/mL	200	0.0016

05-2 样本制备

注意：

- 1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月，样本建议当天提取当天检测。
- 2. 尽量避免使用在碱性条件下呈蓝色或接近蓝色的样本，否则对本试剂盒的检测结果产生干扰。
- 3. 样品中不宜添加Tween、Triton和NP-40等去垢剂和DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的还原剂。
- 4. 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，建议加入等量的同一批样本进行检测。
- 植物组织样本：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- 红酒、果汁等液体样本：吸取 100 μL 样本溶液加入 900 μL Extraction Buffer，旋涡振荡混匀，10000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。

05-3 实验步骤

- 1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 734 nm。
- 2. 检测体系配制：在 96 孔板中按照如下方式操作。阳性对照孔和空白孔只需测 1-2 次。

试剂	测定孔 (μL)	空白孔 (μL)	阳性对照孔 (μL)
样本上清	10	0	0
不同浓度的维生素 C 溶液	0	0	10
去离子水	0	10	0
Working Reagent I	180	180	180

- 3. 吸光度检测：充分混匀，室温避光反应 5 min 后测定 734 nm 处吸光值，分别记为 A_{测定}、A_{空白}、A_{阳性对照}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

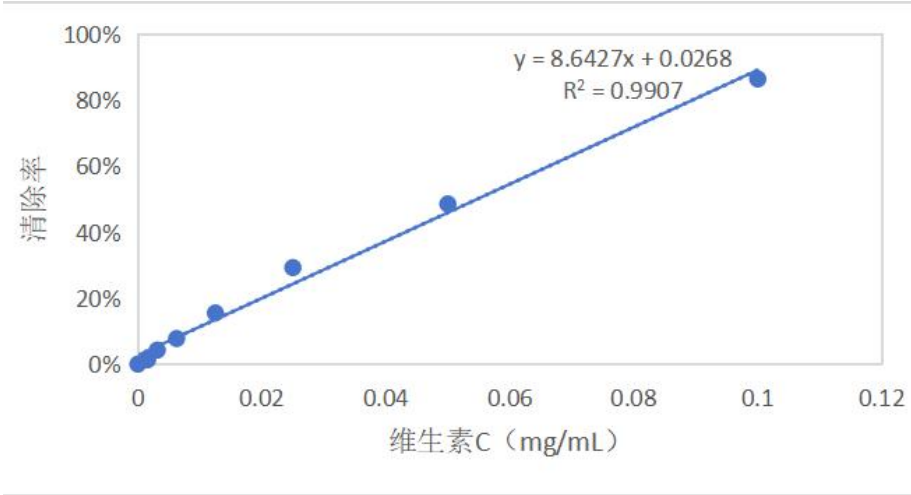
以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

ABTS 自由基清除率计算

- 阳性对照的自由基清除率计算公式：
ABTS 自由基清除率 (D_{vc}%) = [(A_{空白} - A_{阳性对照}) ÷ A_{空白}] × 100%
- 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_{空白}] × 100%

07 结果展示

阳性对照的典型标准曲线： $y=8.6427x+0.0268$ ， $R^2=0.9907$



示例-1: 取 0.1 g 甘蔗，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $A_{\text{空白}}=0.789$ ， $A_{\text{测定}}=0.248$ ，ABTS 自由基清除率 (D%) $=[(A_{\text{空白}}-A_{\text{测定}})\div A_{\text{空白}}]\times 100\%=69\%$ 。

08 FAQ

● 样本清除率过高或者过低怎么办？

如果清除率小于 5%，可适当加大样本量，比如加大液体样本体积；如果清除率大于 90%，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB3080	CheKine™ 植物硝态氮含量检测试剂盒（微量法）
KTB1540	CheKine™ 植物总酚（TP）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ ABTS自由基清除能力检测流程示意图

(Abbking 货号：KTB1093)

