

# ABTS 自由基清除能力测试试剂盒

(A005-96T 分光光度计法)

## 一、测定原理

采用 ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) 评价样品抗氧化能力最初由 Miller 等 (1993) 提出, 现采用的一般是后来 Re 等 (1999) 改进后的方法。该方法利用 ABTS 可被过硫酸钾、过氧化氢、二氧化锰等一系列化合物氧化, 生成蓝绿色的 ABTS<sup>+</sup>阳离子自由基, 在 734nm 处有最大吸收峰。在抗氧化剂的作用下, ABTS<sup>+</sup>还原成无色的 ABTS。通过测定 734nm 处的吸光值, 即可判定反应物的抗氧化能力。

## 二、试剂组成

试剂一: ABTS 试剂 5mL × 1 支

试剂二: 液体试剂 5mL × 1 支

试剂三: 1mM Trolox 标准溶液 5ml × 1 支, 乙醇配制

稀释液: 液体 20mL × 1 瓶

## 三、储存条件及有效期

试剂盒-20°C可保存 6 个月。

## 四、试剂的配制

**ABTS 应用液:** 将试剂二小心全部转入试剂一管内, 旋好管盖, 摇匀, 室温放置 12-16h, 得到 ABTS 浓缩液。取 100μLABTS 浓缩液, 采用稀释液 (稀释液先采用纯水 20×稀释) 稀释至 734nm 处吸光度为 0.60-0.80, 记下稀释倍数 (通常稀释倍数为 50-200 倍, 可先从 80-100 倍区间内开始尝试。) 将剩余浓缩液按稀释倍数稀释, 得到 ABTS 应用液, 避光存放。

**Trolox 标准溶液:** 如您需要将样品的 ABTS 自由基清除能力表示为 Trolox 当量 (TEAC), 则需要同步测定 Trolox 的 ABTS 清除能力; 如您仅需要将结果表示为 ABTS 自由基清除率, 则您可以忽略此步骤 (可以不需要用到试剂三)。

## 五、操作步骤

	空白孔	测定孔	对照孔 <sup>1</sup>
ABTS 应用液 (mL)	4	4	

样品溶液 (mL)		0.4	0.4
稀释液 (mL)	0.4		4

充分混匀，室温避光静置 30min<sup>2</sup>使之充分反应。734nm 处采用酶标仪测定吸光值。

<sup>1</sup>如样品颜色较浅可不作对照管（即认为对照为 0）；

<sup>2</sup>建议反应 30min，数值更为准确，但一般快速测定时，反应 10min 即可。

## 六、计算公式

### 1. 简单计算清除率

$$\text{ABTS 自由基清除能力 (\%)} = \frac{\text{空白孔吸光值} - (\text{测定孔吸光值} - \text{对照孔吸光值})}{\text{空白孔吸光值}} \times 100$$

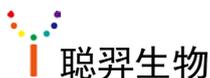
### 2. 将清除率表示为 Trolox 当量 (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC)

先根据计算方法 1 求出不同浓度 Trolox 的 ABTS 自由基清除能力，并作出标准曲线（如下图），再根据计算方法 1 求出样品的 ABTS 自由基清除能力，根据标准曲线求出 TEAC。

注：如未做对照管，可以将其视作为 0。

## 七、注意事项

1. 如样品中色素物质不是分析对象，建议先进行脱色处理，处理后样品可不作对照孔；
2. 如不确定样品的 ABTS 自由基清除能力，可先做不同浓度的稀释液进行摸索，并选择适宜浓度进行测定，高浓度下，浓度与清除率间并不线性相关。Trolox 标准曲线绘制建议选取 5-50 $\mu\text{M}$  的浓度（以体系终浓度计算，该试验为 11 $\times$  稀释，即配制 55-550 $\mu\text{M}$  的 Trolox）进行分析；
3. 混匀很重要，建议加样时反复吹打，加样结束后剧烈振摇试管 30 秒以上（液体不能溅出来）。
4. 若稀释液 20 倍稀释后总量不够，也可将稀释液 20-50 倍稀释，对结果无显著影响。



上海琮益科技有限公司

官方网站: [www.congyibio.com](http://www.congyibio.com)

技术支持: [info@congyi-tech.com](mailto:info@congyi-tech.com)



图形及“聪羿生物®”均为上海琮益科技有限公司注册商标。