（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K219-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(405-425 nm)

Elabscience®总抗氧化能力(T-AOC)比色法测试盒 (ABTS 酶催化法)

Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Colorimetric Assay Kit (ABTS, Enzyme Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100
邮箱：biochemical@elabscience.cn
网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、唾液、尿液、动植物组织、细胞等样本中的总抗氧化能力。

检测原理

ABTS 在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的，在抗氧化物存在时的产生会被抑制，在 414 nm 测定的吸光度即可测定并计算出样本中的总抗氧化能力。Trolox 是一种维生素 E 的类似物，具有和维生素 E 相近的抗氧化能力，用作其他抗氧化物总抗氧化能力的参考。例如，Trolox 的总抗氧化能力为 1，相同浓度情况下，其他物质的总抗氧化能力用其抗氧化能力和 Trolox 相应的倍数来表示。

本试剂盒检测细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48T)	规格 2 (Size 2)(96T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲溶液 (Buffer Solution)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	ABTS (ABTS Solution)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	过氧化氢 (H_2O_2 Solution)	0.25 mL×1 支	0.5 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	过氧化物酶 (Peroxidase)	0.1 mL×1 支	0.2 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	5 mmol/L Trolox 标准品 (5 mmol/L Trolox Standard)	0.3 mL×1 支	0.6 mL×1 支	-20℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		

	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪（405-425 nm）

试剂：双蒸水、60%乙醇、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

试剂准备

① 试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂三应用液的配制：

按试剂三：双蒸水为1: 39的体积比混匀即可。

③ ABTS工作液的配制：

按照试剂一:试剂二:试剂三应用液为152: 10: 8的体积比混匀即可。ABTS工作液配制后，室温避光保存，请在30 min内使用完毕。

④ 试剂四应用液的配制：

按试剂四：试剂一为1: 9的体积比混匀即可，现用现配。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.3**	**0.4**	**0.6**	**0.8**	**1.0**
5 mmol/L 标准品(μL)	0	4	8	12	16	24	32	40
稀释液(μL)	200	196	192	188	184	176	168	160

注：稀释液为（PBS 或 60%乙醇），根据样本为水溶性或非水溶性，选择 PBS 或 60%乙醇进行标准品的稀释。

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织样本：匀浆介质是 60%无水乙醇，匀浆离心后取上清进行测定。

细胞样本：匀浆介质是 PBS（0.01 M，pH 7.4），匀浆离心后取上清进行测定，留取部分上清测蛋白。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.047-1.50 mmol/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠脑匀浆	不稀释	人血清	不稀释
10%大鼠肝匀浆	不稀释	人唾液	不稀释
10%大鼠肾匀浆	不稀释	人尿液	不稀释
10%绿萝匀浆	不稀释	大鼠血清	不稀释

注：当待检测样品为水溶性样品时，用 PBS 稀释（0.01 M，pH 7.4）；当待检测样品为非水溶性样品时，用 60%乙醇稀释。

实验关键点

ABTS 工作液配制完成后，室温避光保存，在 30 min 内使用完毕。

操作步骤

① 标准孔：取 10 μL 8 个不同浓度的标准品，加入到对应的酶标板孔；
测定孔：取 10 μL 待测样本，加入到对应的酶标板孔。

② 向步骤①中的各孔加入 20 μL 试剂四应用液。

③ 向步骤②中的各孔加入 170 μL ABTS 工作液。

④ 室温静置 6 min，酶标仪 414 nm，测定 OD 值。

操作表

	标准孔	**测定孔**
不同浓度 Trolox 标准品(μL)	10	--
待测样本(μL)	--	10
试剂四应用液(μL)	20	20
ABTS 工作液(μL)	170	170
室温静置 6 min，酶标仪 414 nm，测定 OD 值。		

本试剂盒检测细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清（浆）等液体样本总抗氧化能力计算公式：

$$\text{T-AOC（mmol/L）} = (\Delta A_{414} - b) \div a \times f$$

组织样本总抗氧化能力计算公式：

$$\text{T-AOC（mmol/kg wet weight）} = (\Delta A_{414} - b) \div a \times f \div \frac{m}{V}$$

细胞总抗氧化能力计算公式：

$$\text{T-AOC（mmol/gprot）} = (\Delta A_{414} - b) \div a \times f \div C_{pr}$$

注解：

y：标准品平均 OD 值

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA_{414}：样本平均 OD 值

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

V：样本匀浆液加入量(mL)

m：组织湿重质量（g）

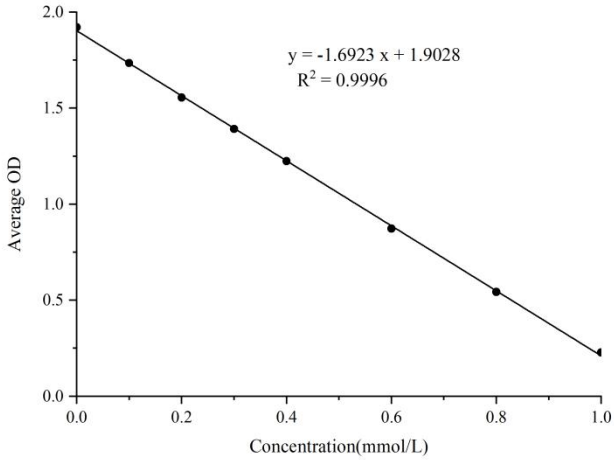
Cpr：待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.047-1.50 mmol/L	**平均批间差**	4.1 %
灵敏度	0.047 mmol/L	**平均批内差**	2.2 %
平均回收率	101%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



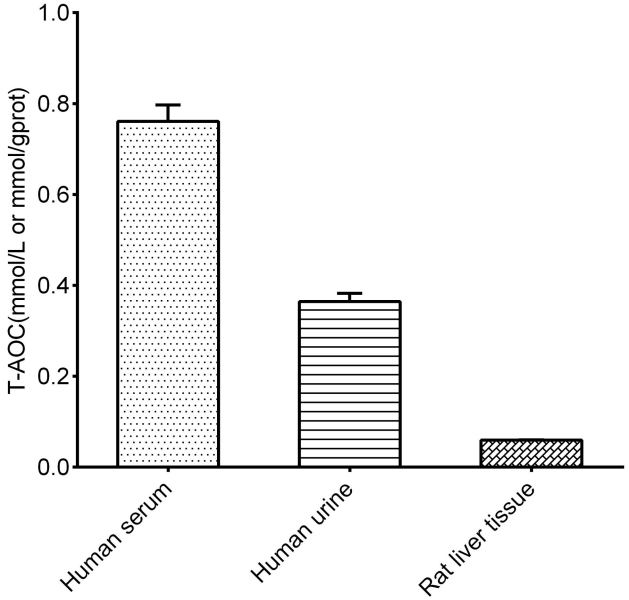
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考)：

取10 μL人血清，按操作操作，结果如下：标准曲线y = -1.122 x + 1.7172，测定孔OD值为0.863，计算结果为：

$$\text{T-AOC (mmol/L)} = (0.863 - 1.7172) \div (-1.122) = 0.76\ \text{mmol/L}$$

按照说明书操作，测定人血清（加样量10 μL）、人尿液（加样量10 μL）、大鼠肝脏组织（10%组织匀浆的蛋白含量15.14 g/L，加样量10 μL）中的总抗氧化能力（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>1.50 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Liu Q , Wang L , Wang Z ,et al.Preparation and characterization of carvacrol/soybean protein isolate composite film with efficient antimicrobial and antioxidant activities and its application in grape preservation[J].Food Chemistry, 2025, 464.DOI:10.1016/j.foodchem.2024.141572.
2. Bao L , Huang Y , Gu F ,et al.Zearalenone induces liver injury in mice through ferroptosis pathway[J].The Science of the total environment, 952:175875[2025-03-03].DOI:10.1016/j.scitotenv.2024.175875.
3. Li H , Li H , Stanton C ,et al.Exopolysaccharides Produced by Bifidobacterium longum subsp. longum YS108R Ameliorates DSS-Induced Ulcerative Colitis in Mice by Improving the Gut Barrier and Regulating the Gut Microbiota[J].[2025-03-03].
4. Toghan R , Amin Y A , Ali R A ,et al.Protective effects of Folic acid against reproductive, hematological, hepatic, and renal toxicity induced by Acetamiprid in male Albino rats[J].Toxicology, 2022, 469:153115.DOI:10.1016/j.tox.2022.153115.
5. Marhamati S , Younesian O , Mir S M ,et al.The effects of high doses of selenium supplementation on mRNA and protein levels of cMLCK levels and total antioxidant capacity in rat heart tissue[J].Food and Chemical Toxicology, 2024, 191(000):4.DOI:10.1016/j.fct.2024.114886.