

(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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 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	1 板		
	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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  试剂四应用液。
- ③ 向步骤②中的各孔加入 170  $\mu\text{L}$  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( $\mu\text{L}$ )	10	--
待测样本( $\mu\text{L}$ )	--	10
试剂四应用液( $\mu\text{L}$ )	20	20
ABTS 工作液( $\mu\text{L}$ )	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

$\Delta A_{414}$ : 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)

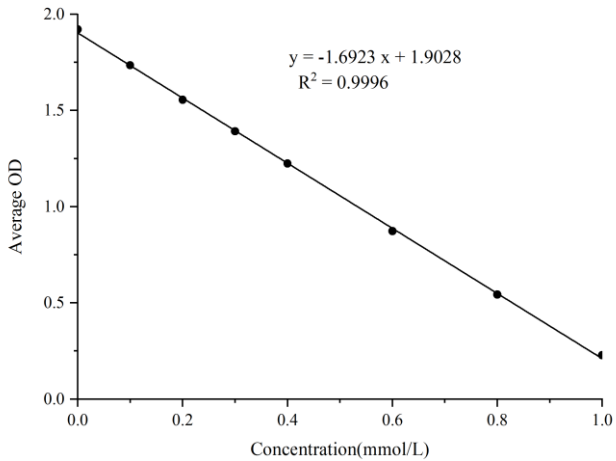
C<sub>pr</sub>: 待测样本的蛋白浓度 (gprot/L)

## 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)



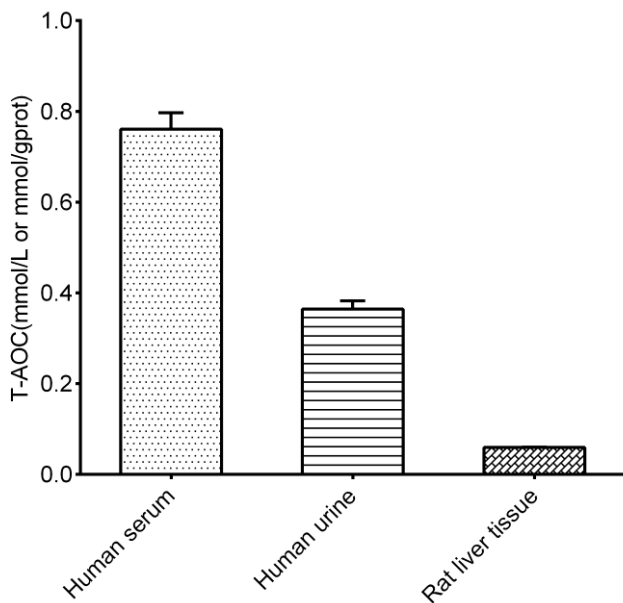
## 附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取10  $\mu\text{L}$ 人血清,按操作操作,结果如下:标准曲线 $y = -1.122x + 1.7172$ ,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  $\mu\text{L}$ )、人尿液(加样量10  $\mu\text{L}$ )、大鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量15.14 g/L,加样量10  $\mu\text{L}$ )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. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675
11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on

- monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
  13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
  14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1  $\alpha$  -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
  15. Chagas TQ, Freitas N, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
  16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
  17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
  18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
  19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
  20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
  21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell

Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113

22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- $\kappa$ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- $\beta$  Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508