（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-K298-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(530-540 nm)

Elabscience®硫代巴比妥酸反应物（TBARS）比色法测试盒

Thiobarbituric Acid Reactants (TBARS) Colorimetric Assay Kit

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

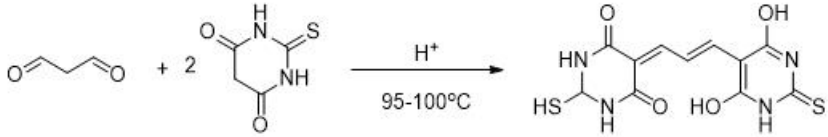
具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、动物组织等样本中的 TBARS 含量。

检测原理

TBARS（Thiobarbituric acid reactive substances）主要指丙二醛，可以和 TBA 在高温和酸性条件下反应形成的粉红色的化合物，其浓度与样本中 TBARS 的浓度具有线性关系，通过测定 530-540 nm 下的 OD 值可以间接计算 TBARS 的浓度。



本试剂盒在检测组织样本时，需要测定总蛋白浓度，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)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	澄清剂 (Clarificant)	12 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酸试剂 (Acid Reagent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	TBA 试剂 (TBA Reagent)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	200 μmol/L 标准品 (200 μmol/L Standard)	5 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	2-8℃ 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（530-540 nm）

试剂：冰乙酸、双蒸水或去离子水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂一2-8℃存放时会凝固，使用前37℃加热，直到透明液体方可使用。

③ 试剂二应用液的配制：

按 1.2 mL 试剂二：34 mL 双蒸水比例混匀即可，现配现用，未用完的试剂 2-8℃可保存 1 天。

④ 试剂三应用液配制：

将粉剂加入到 60 mL 90-100℃的双蒸水中，搅拌溶解，加冰乙酸 60 mL，混匀，冷却至室温，2-8℃避光保存 1 个月。**（冰乙酸自备）**。

⑤ 显色剂的配制：

按试剂二应用液：试剂三应用液=3: 1 的比例混匀即可，现配现用，24 h 之内用完。

⑥ 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(μmol/L)	**0**	**5**	**10**	**20**	**40**	**60**	**80**	**100**
200 μmol/L 标准品(μL)	0	25	50	100	200	300	400	500
双蒸水(μL)	1000	975	950	900	800	700	600	500

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：直接进行测定。

组织样本：取 0.020-1 g 新鲜组织块，用 2-8℃的 PBS（0.01 M，pH 7.4）漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量（g）：体积（mL）=1: 9 的比例加入 PBS（0.01 M，pH 7.4），进行匀浆，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留一部分上清用于蛋白测定。

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：2.6-100 μmol/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
人血清	不稀释	人血浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	小鼠血清	不稀释
10%小鼠脑匀浆	不稀释	10%大鼠肝匀浆	不稀释

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

实验关键点

① 水浴反应 60 min 时温度要控制在 95-100℃。

② 水浴反应中，不可直接盖紧 EP 管或玻璃试管盖子，应用保鲜膜封紧试管口并在保鲜膜上扎气孔。

操作步骤

① 标准管：取 0.1 mL 不同浓度的标准品，分别加入到带有标准编号 10 mL 玻璃试管中；

样本管：取 0.1 mL 待测样本，加入到 10 mL 玻璃试管中。

② 向步骤①中的各管加入 0.1 mL 试剂一。

③ 向步骤②中各管加入 4 mL 的显色剂。

④ 试管口用保鲜膜扎紧，充分混匀，并在保鲜膜上扎一个小孔，100℃水浴 1 h。

⑥ 流水冷却至室温，1600 × g 离心 10 min。

⑦ 用微量移液器取上清液 0.25 mL 到酶标板。（不能将沉淀加入酶标板中）

⑧ 酶标仪上测定 532 nm 处的 OD 值。

操作表

	标准管	**测定管**
不同浓度的标准品(mL)	0.1	
待测样本(mL)		0.1
试剂一(mL)	0.1	0.1
显色剂(mL)	4	4
混匀，试管口用保鲜膜扎紧，并在保鲜膜上扎一小孔，100℃水浴 1 h，流水冷却至室温，1600 × g 离心 10 min。用微量移液器取上清液 0.25 mL 到酶标板，酶标仪上测定 532 nm 处的 OD 值。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清（浆）TBARS 含量的计算公式：

$$\text{TBARS}_{(\mu mol/L)} = (\Delta A-b)\div a\times f$$

组织中 TBARS 含量的计算公式：

$$\text{TBARS}_{(\mu mol/gprot)} = (\Delta A-b)\div a\times f\div C_{pr}$$

注解：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

a：标准曲线斜率

b：标准曲线截距

ΔA：样本测定 OD 值-空白 OD 值

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

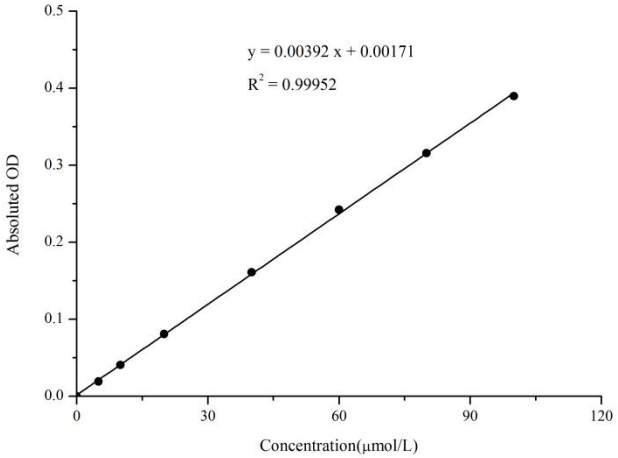
C_{pr}：样本的蛋白浓度（gprot/L）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	2.6-100 μmol/L	平均批间差	7.1 %
灵敏度	0.85 μmol/L	平均批内差	4.3 %
平均回收率	100.9 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

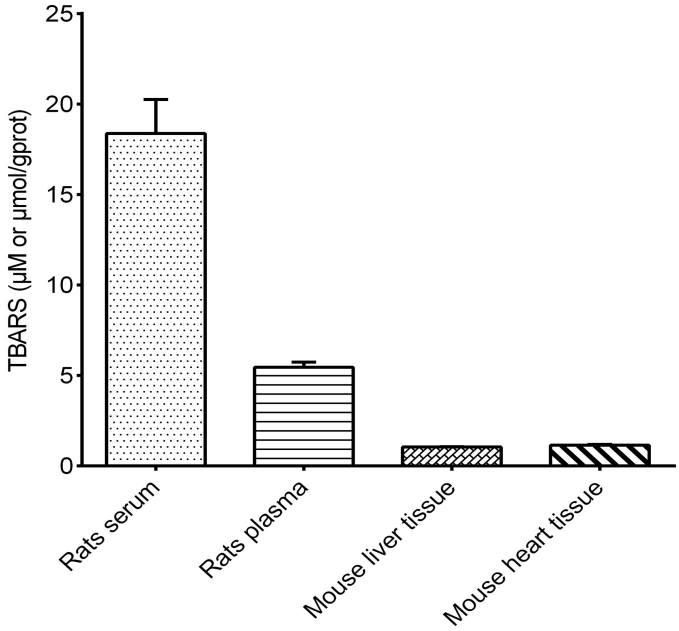
例如检测小鼠肝脏组织(数据仅供参考):

取0.1 mL的10%小鼠肝脏组织匀浆，按操作表操作，结果如下：

标准曲线：y = 0.0038 x - 0.0013，测定管平均OD值为0.106，空白管平均OD值为0.047，同时测得匀浆蛋白含量为15.18 gprot/L计算结果为：

TBARS 含量（μmol/gprot）=(0.106-0.047+0.0013)÷0.0038÷15.15=1.05 μmol/gprot

按说明书操作，测定大鼠血清（加样量0.1 mL）、大鼠血浆（加样量0.1 mL）、小鼠肝脏组织（10%组织匀浆的蛋白含量15.18 g/L，加样量0.1 mL）及小鼠心组织（10%组织匀浆的蛋白含量5.55 g/L，加样量0.1 mL）中的TBARS含量（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定，复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样，避免产生气泡
	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	水浴时间太短	保证充足的水浴时间
	水浴温度较低	严格控制水浴温度95-100℃
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
	样本含量太低，低于灵敏度	增加取样量或者浓缩样本
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测

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. Shi C , Jia L , Tao H ,et al.Fortification of cassava starch edible films with Litsea cubeba essential oil for chicken meat preservation[J].International journal of biological macromolecules, 276(Pt 2):133920[2025-03-03].DOI:10.1016/j.ijbiomac.2024.133920.

2. Cui H, Yang Y, Aziz T, et al. Exploring the potential of chlorogenic acid/chitosan nanoparticle-loaded edible films with photodynamic technology for Mongolian cheese application[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 279: 135091.

3. Shi C , Jia L , Tao H ,et al.Effects of guar gum/chitosan edible films functionalized with citronellal/HP β CD inclusion complex on Harbin red sausage preservation[J].International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 282(Part6):15.DOI:10.1016/j.ijbiomac.2024.137312.

4. Parn K W, Ling W C, Chin J H, et al. Safety and efficacy of dietary epigallocatechin gallate supplementation in attenuating hypertension via its modulatory activities on the intrarenal renin－angiotensin system in spontaneously hypertensive rats[J]. Nutrients, 2022, 14(21): 4605.

5. Khongwichit S, Swangphon P, Nanakorn N, et al. A simple aptamer/gold nanoparticle aggregation-based colorimetric assay for oxidized low-density lipoprotein determination[J]. Talanta, 2023, 254: 124199.

6. Kim M J , Chilakala R , Jo H G ,et al.Anti-Obesity and Anti-Hyperglycemic Effects of[J].International journal of molecular sciences, 2022, 23(7).DOI:10.3390/ijms23074015.