

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ144

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)比色法试剂盒
(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：GBQ162）。

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 ₂ O 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：GBQ162）。

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)

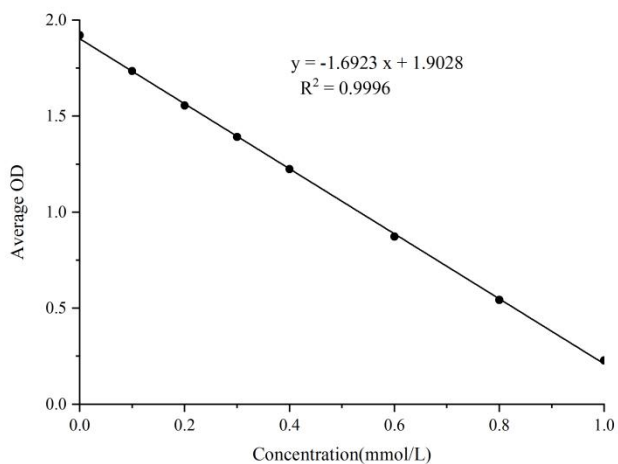
C_{pr}: 待测样本的蛋白浓度 (gprot/L)

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)



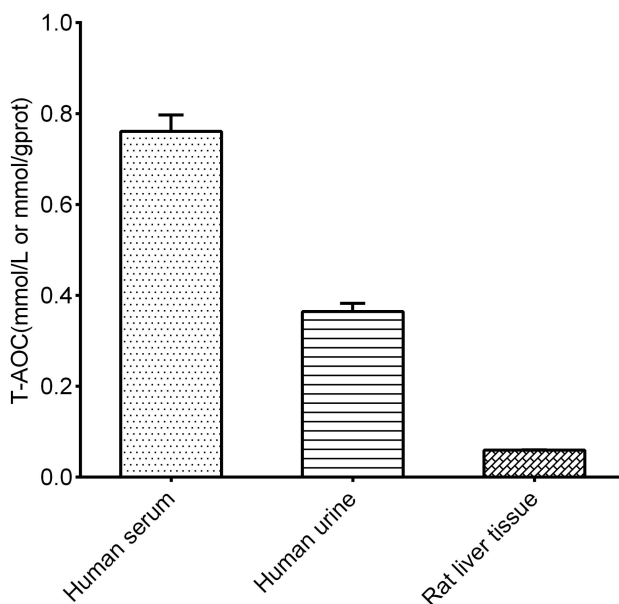
附录2 实例分析

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 $y = -1.122x + 1.7172$, 测定孔OD值为0.863, 计算结果为:

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

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 $>1.50\text{ mmol/L}$	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 H₂O₂ 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 nanoplatform 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 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, 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- κ 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- β 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