

(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-K271-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(730-740 nm)

Elabscience[®]总抗氧化能力(T-AOC)比色法测试盒 (ABTS 化学法)

Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Colorimetric Assay Kit (ABTS, Chemical 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）、尿液、唾液、组织、细胞、植物或中草药抽提液、各种抗氧化物溶液的总抗氧化能力。

检测原理

ABTS 在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 $ABTS^{\cdot+}$ ，在抗氧化物存在时 $ABTS^{\cdot+}$ 的产生会被抑制，在 734 nm 测定 $ABTS^{\cdot+}$ 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。

本试剂盒检测组织和细胞样本时，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)	ABTS 溶液 (ABTS Solution)	0.3 mL×1 支	0.6 mL×1 支	-20℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	氧化剂溶液 (Oxidant Solution)	0.3 mL×1 支	0.6 mL×1 支	-20℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	5 mmol/L Trolox 溶液 (5 mmol/L Trolox Standard)	0.5 mL×1 支	0.5 mL×1 支	-20℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	10×PBS (10×PBS Solution)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	-20℃ 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，不同试剂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（730-740 nm）

试剂：双蒸水、1×PBS、80%乙醇

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② ABTS工作液的配制：

按试剂一：试剂二为 1:1 的体积比混匀，为 ABTS 工作母液；ABTS 工作母液配制后，室温避光存放 12-16 小时后方可使用，2 天内保持稳定。

使用前，把 ABTS 工作母液用稀释液（1×PBS 或 80%乙醇）稀释成 ABTS 工作液，要求空白孔（10 μL 稀释液+200 μL 工作液） A_{734} 为 0.9-1.1。

当待检测样品为水溶性样品时，用 1×PBS 稀释，此时 ABTS 工作母液的稀释倍数约为 20-30 倍；当待检测样品为非水溶性样品时，用 80%乙醇稀释，此时 ABTS 工作母液的稀释倍数约为 22-32 倍。

③ 1×PBS的配制：

按试剂四：双蒸水为 1:9 的体积比混匀即可。

④ 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	0.15	0.3	0.45	0.6	0.75	0.9	1.0
5 mmol/L Trolox (μL)	0	6	12	18	24	30	36	40
稀释液(μL)	200	194	188	182	176	170	164	160

注：稀释液为（1×PBS 或 80%乙醇），根据样本为水溶性或非水溶性，选择 1×PBS 或 80%乙醇进行标准品的稀释。

样本准备

① 样本处理

样本要求：样本中不能添加SDS、Tween、Triton和NP-40等去污剂，不能添加DTT、2-巯基乙醇等还原性物质。

血清血浆等液体样本：直接进行测定。

组织样本：取 0.020-1.0 g 新鲜组织块，用 2-8°C 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 2-8°C 的 PBS (0.01 M, pH 7.4)，进行匀浆，4°C，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

细胞样本：收集细胞，按照 10⁶ 个细胞加入 200 μL 匀浆介质的比例加入 PBS (0.01 M, pH 7.4)，进行超声破碎或机械匀浆，充分破碎（无明显的细胞沉淀，可在显微镜下观察），4°C，1500 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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：0.05-1.00 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
20%西红柿匀浆	2-5	人唾液	2-5
10%小鼠心匀浆	8-12	人尿液	15-30
10%小鼠肝匀浆	8-12	人血清	15-30
10%小鼠肺匀浆	8-12	人血浆	8-15

注：稀释液为 1×PBS 或 80%乙醇。

实验关键点

① ABTS 工作母液及工作液需避光保存，否则 OD 值会降低，且 ABTS 工作母液室温避光可保存 2 天。

② 在操作过程中，先加入样本，后加入 ABTS 工作液。

操作步骤

- ① 标准孔: 取 8 个不同浓度的标准品各 10 μL , 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 200 μL ABTS 工作液。
- ③ 室温静置 2-6 min, 酶标仪 734 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
ABTS 工作液(μL)	200	200
室温静置 2-6 min, 酶标仪 734 nm, 测定 OD 值		

本试剂盒检测组织或细胞样本时, 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)、唾液、尿液、细胞上清等样本总抗氧化能力计算公式:

$$\text{T-AOC (mmol/L)} = (\Delta A_{734} - b) \div a \times f$$

组织匀浆、细胞中总抗氧化能力计算公式:

$$\text{T-AOC (mmol/gprot)} = (\Delta A_{734} - b) \div a \div C_{\text{pr}} \times f$$

注解:

y: 空白 OD 值-标准 OD 值

a: 标曲斜率

b: 标曲截距

x: 标准品的浓度

ΔA_{734} : 空白 OD 值-样本 OD 值

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

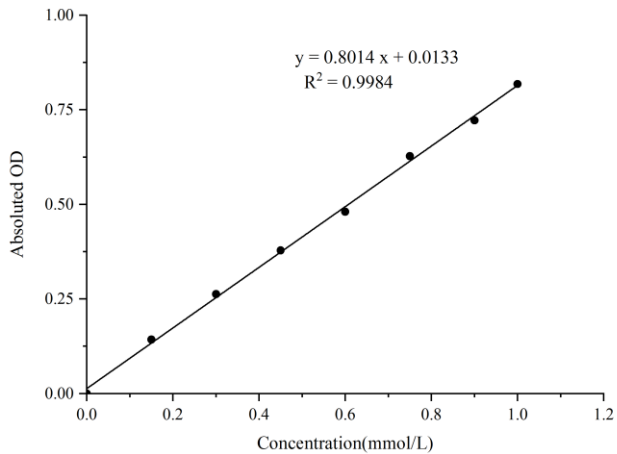
C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度 (gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.05-1.00 mmol/L	平均批间差	5.0 %
灵敏度	0.05 mmol/L	平均批内差	4.1 %
平均回收率	102 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

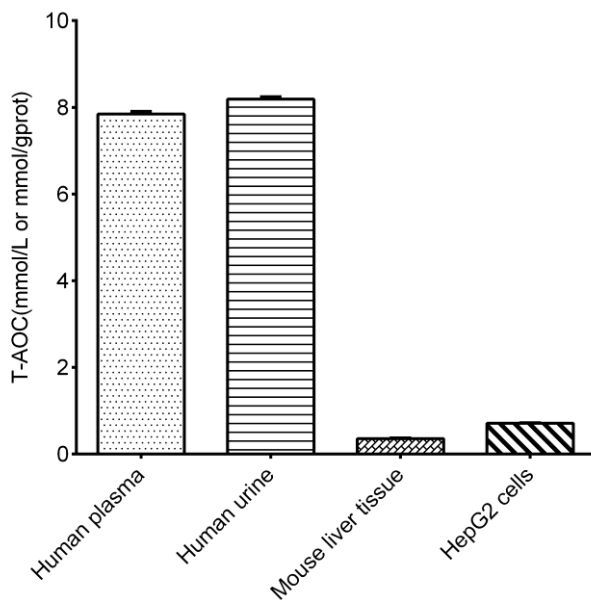
例如检测人血浆(数据仅供参考):

用1×PBS将人血浆稀释12倍,取10 μL稀释后的人血浆,按操作表操作,结果如下:

标准曲线: $y = 0.8014x + 0.0133$, 空白孔平均OD值为0.953, 测定孔平均OD值为0.412, 计算结果为:

$$T-AOC (\text{mmol/L}) = (0.953 - 0.412 - 0.0133) \div 0.8014 \times 12 = 7.89 \text{ mmol/L}$$

按照操作过程,测定人血浆(稀释倍数12,加样量10 μL)、人尿液(稀释倍数20,加样量10 μL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量11.14 g/L,稀释倍数9,加样量10 μL)和HepG2细胞(蛋白含量3.18 g/L,稀释倍数4,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>1.00 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 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- 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