

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

## 总抗氧化能力测定试剂盒(ABTS 法) Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit (ABTS Method)

产品货号: BC00013

产品规格: 300T

**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:**

✉ 邮箱 (销售)      [order@enkilife.cn](mailto:order@enkilife.cn)

✉ 邮箱 (技术支持)    [tech@enkilife.cn](mailto:tech@enkilife.cn)

☎ 公司电话      027-87002838

🌐 网址      [www.enkilife.cn](http://www.enkilife.cn)



订阅微信公众号  
获取更多技术  
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

|         |                                                            |
|---------|------------------------------------------------------------|
| 产品中文名称  | 总抗氧化能力测定试剂盒(ABTS 法)                                        |
| 产品英文名称  | Total Antioxidant Capacity (T-AOC) Assay Kit (ABTS Method) |
| 检测方法    | Colorimetric                                               |
| 样品类型    | 组织、细胞、血清、血浆、唾液、尿液、植物或中草药抽提液                                |
| 检测类型    | Quantitative                                               |
| 检测仪器及波长 | 酶标仪（725-745 nm，最佳检测波长 734nm；或者 405 nm）                     |
| 检测范围    | 0.2–1.6mM                                                  |
| 灵敏度     | 0.0513mM                                                   |

产品简介

活性氧(ROS)主要包括羟基自由基、超氧自由基和过氧化氢。活性氧可以导致细胞内脂、蛋白和 DNA 等的氧化损伤，诱发氧化应激，继而导致各种肿瘤、动脉粥样硬化、风湿性关节炎、糖尿病、肝损伤、以及中枢神经系统疾病等。

机体中存在多种抗氧化物，包括抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶等，可以清除体内产生的各种活性氧，以阻止活性氧诱导的氧化应激的产生。一个体系内的各种抗氧化大分子、抗氧化小分子和酶的总的水平即体现了该体系内的总抗氧化能力。因此测定血浆、血清、尿液、唾液等各种体液，细胞或组织等裂解液中的总抗氧化能力具有非常重要的生物学意义。

植物或中草药抽提液、或各种抗氧化物溶液的总抗氧化能力的检测可以用于检测各种溶液的抗氧化能力的强弱，可以用于筛选强抗氧化能力的药物。

产品特点

★ 本试剂盒方便快捷，加入待测样品后 2-6 分钟即可进行吸光度测定，通常 10-20 个样品可以在十多分钟内检测完毕。

检测原理

本试剂盒以 ABTS（2,2'-联氨基双[3-乙基苯并噻唑-6-磺酸]）为显色剂，能够准确测定样品中的总抗氧化能力。ABTS 在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 ABTS<sup>+</sup>，在抗氧化物存在时

ABTS+的产生会被抑制, 在 734nm 或 405nm 测定 ABTS+的吸光度即可测定并计算出样品的总抗氧化能力。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, 用作其它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, 其它物质的抗氧化能力用其抗氧化能力和 Trolox 相比的倍数来表示。

### 产品组分

| 编号  | 产品名称             | 包装规格 (300T) | 保存方式         |
|-----|------------------|-------------|--------------|
| 试剂一 | ABTS 溶液          | 1ml         | -20℃, 需避光保存。 |
| 试剂二 | 氧化剂溶液            | 1ml         | -20℃         |
| 试剂三 | Trolox 溶液 (10mM) | 0.5ml       | -20℃, 需避光保存。 |
| 耗材一 | 96 孔酶标板          | 3 板         | RT           |
| 耗材二 | 96 孔覆膜           | 6 张         | RT           |

### 保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月。

### 实验前准备

#### • 样品处理

#### 1. 血清、血浆、唾液或尿液样品的准备

血清、血浆、唾液或尿液样品每个样品需要 10 微升, 都可以直接用于测定。血清、血浆、唾液或尿液样品都可以使用新鲜样品进行测定, 也可以-80℃ 冻存后再进行测定。 -80℃ 冻存的样品至少在一个月所测定获得的数据没有显著变化。

注意: 血浆制备时可以使用肝素或柠檬酸钠抗凝, 不宜使用 EDTA 抗凝。根据文献报道, 人血清或血浆中的总抗氧化能力为 0.5-2mM, 人唾液中的总抗氧化能力为 0.3-1mM, 人尿液中的总抗氧化能力为 0.2-3mM。

#### 2. 细胞或组织样品的准备

对于细胞样品, 收集约 100 万个细胞(不必精确计数, 直接刮下, 不宜使用胰酶和 EDTA 消化), 放置在 200 微升冰冷的 PBS 或 HBSS 溶液中, 匀浆或超声以充分破碎细胞并释

放其中的抗氧化物，4℃ 约 12000g 离心 5 分钟，取上清用于后续测定。

对于组织样品，每 20mg 组织加入 100 微升冰冷的 PBS 或 HBSS 溶液，匀浆或超声以充分破碎组织并释放其中的抗氧化物，4℃ 约 12000g 离心 5 分钟，取上清用于后续测定。以上所有操作均需在 4℃ 或冰上操作。制备好的细胞或组织样品的上清如果不立即用于测定，可以在-80℃ 冻存。 -80℃ 冻存的样品至少在一个月所测定获得的数据没有显著变化。细胞或组织样品在测定总抗氧化能力时需同时测定蛋白浓度，最后测定获得的总抗氧化能力通常表示为每毫克或每克蛋白重量中的总抗氧化能力，表示单位为 mmol/mg 或 mmol/g。

3. 其它样品的准备

植物或中草药抽提液都可以直接用于检测。需注意样品本身的颜色不会干扰检测。植物或中草药抽提液的抗氧化能力可以表示为每毫克或每克抽提物干重中的总抗氧化能力，表示单位为 mmol/mg 或 mmol/g。各种抗氧化物测定其抗氧化能力时，通常配制成 0.15-1.5mM，然后进行测定。抗氧化物的浓度可以以摩尔浓度表示时，测定获得的总抗氧化能力可以用相对总抗氧化能力进行表示，例如 0.5mM 的某抗氧化物其测定获得的 OD 值和 1mM 的 Trolox 测定获得的 OD 值相同，则其相对总抗氧化能力为 2，再如 0.2mM 的某抗氧化物其测定获得的 OD 值和 1mM 的 Trolox 测定获得的 OD 值相同，则其相对总抗氧化能力为 5。根据文献报道和实际测定结果，维生素 C 的抗氧化能力为 1.0，维生素 E 的抗氧化能力为 1.0，GSH 的抗氧化能力为 1.3，Uric acid 的抗氧化能力为 1.0，β-Carotene 的抗氧化能力为 2.6，Lycopene 的抗氧化能力为 3.1，Quercetin 的抗氧化能力为 3.0，鲜橙汁的总抗氧化能力为 2.2。

• 试剂盒的准备工作

1. ABTS 工作液的配制

参考下表，根据待测定样品的数量(含标准曲线)配制适量的 ABTS 工作液，首先使用等体积 ABTS 溶液和氧化剂溶液配制 ABTS 工作母液，具体如下：

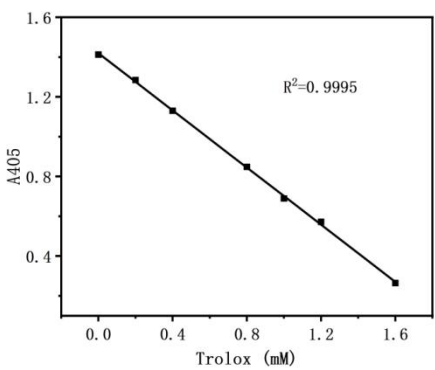
| 待测定样品数  | 约 12-20 个 | 约 30-50 个 | 约 60-100 个 | 约 120-200 个 |
|---------|-----------|-----------|------------|-------------|
| ABTS 溶液 | 40 μl     | 100 μl    | 200 μl     | 400 μl      |
| 氧化剂溶液   | 40 μl     | 100 μl    | 200 μl     | 400 μl      |

|           |            |             |             |             |
|-----------|------------|-------------|-------------|-------------|
| ABTS 工作母液 | 80 $\mu$ l | 200 $\mu$ l | 400 $\mu$ l | 800 $\mu$ l |
|-----------|------------|-------------|-------------|-------------|

ABTS 工作母液配制后，室温避光存放 12-16 小时后方可使用。配制好的 ABTS 工作母液室温避光存放，在 2-3 天内稳定。在使用前，把 ABTS 工作母液用 PBS 或 80%乙醇稀释成 ABTS 工作液，要求 ABTS 工作液的吸光度减去相应的 PBS 或 80%乙醇空白对照后，A734 为  $0.7 \pm 0.05$ ，对应的 A405 在 1.4 左右。当待检测样品为水溶性样品时，用 PBS 稀释，此时 ABTS 工作母液的稀倍数约为 30-50 倍；当待检测样品为非水溶性样品时，用 80%乙醇稀释，此时 ABTS 工作母液的稀倍数约为 35-55 倍。

## 2. 标准曲线测定的准备

用蒸馏水或样品配制溶液稀释标准品。对于血清、血浆、唾液或尿液样品直接用蒸馏水或 PBS 稀释标准品，对于细胞或组织样品，使用用于细胞或组织匀浆的溶液稀释标准品，其它样品则用样品配制溶液对标准品进行稀释，或选择 PBS 或 80%乙醇来稀释标准品。把 10mM Trolox 标准溶液稀释成 1.6mM 后，使用对半稀释法得到 1.6、0.8、0.4、0.2、0mM 标准品做标准曲线。下图展示了本试剂盒测定标准曲线的典型图。



## 操作流程

1. 96 孔板的每个检测孔中加入 200 微升 ABTS 工作液。
2. 空白对照孔中加入 10 微升蒸馏水或 PBS 等适当溶液；标准曲线检测孔内加入 10 微升各种浓度的 Trolox 标准溶液；样品检测孔内加入 10 微升各种样品。轻轻混匀。
3. 室温孵育 2-6 分钟后测定 A734。如果测定 A734 有困难，也可以在 725-745nm 范围内进行测定。如果样品在 725-745nm 范围内检测有困难或受样品干扰，也可以尝试检测 A405。对于细胞或组织样品，检测 A405 时很可能会因为样品本身的吸光度而

对检测结果产生一定的干扰。

4. 根据标准曲线计算出样品的总抗氧化能力。如果样品测定出来的吸光度在标准曲线范围以外，需把样品适当稀释或浓缩后再进行测定。

## 结果计算

在采用 Trolox 作为标准品进行总抗氧化能力检测时，样品的抗氧化能力可以用 Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)来表示。对于混合物例如血浆、血清、唾液或尿液等的抗氧化能力，可以直接用 Trolox 的摩尔浓度来表示，例如某样品测定获得的抑制率和 0.6mM 的 Trolox 相同，则该样品的总抗氧化能力为 0.6mM；再如某样品稀释 5 倍后测定获得的抑制率和 0.5mM 的 Trolox 相同，则该样品的总抗氧化能力为 2.5mM。对于细胞或组织裂解液等，例如某裂解液样品的蛋白浓度为 0.15mg/ml，测定获得的抑制率和 0.3mM Trolox 相同，则该裂解液样品的总抗氧化能力为 0.3mM/0.15mg/ml，即为 2mmol/g。对于植物或中草药抽提物，例如某样品的浓度为 0.1mg/ml，测定获得的抑制率和 0.5mM Trolox 相同，则该样品的总抗氧化能力为 0.5mM/0.1mg/ml，即为 5mmol/g。对于纯的化合物例如维生素 C、GSH 等，例如使用 1mM 某样品检测时的抑制率相当于 1.5mM Trolox 时，该样品的抗氧化能力为 1.5mM，再如使用 0.5mM 某样品检测时的抑制率相当于 0.8mM Trolox 时，该样品的抗氧化能力为 1.6mM。

## 注意事项

1. 样品中不能添加 DTT、巯基乙醇等影响氧化还原反应的物质，也不宜添加 Tween、Triton 和 NP-40 等去垢剂。
2. 需使用可以测定 A734(725-745nm 也可以)的酶标仪或可以测定微量样品的分光光度计。
3. ABTS 对人体有刺激性，操作时请小心，并注意适当防护以避免直接接触人体或吸入体内。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。