

总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(ABTS 微板法)

产品编号: MA1517

规格: 100T

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1517-1 100T	保存条件	有效期	运输条件
ABTS 溶液	0.5mL	-20℃, 避光	自生产之日起 12 个月	湿冰运输
氧化剂	0.5mL	2-8℃		
Trolox	5mg	2-8℃, 避光		
说明书	1 份			

产品简介

活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 主要包括羟基自由基、超氧自由基和过氧化氢。其既可来源于细胞与组织的生理代谢, 紫外照射、环境污染等外界条件也会诱导生成 ROS。过量活性氧会造成胞内脂质、蛋白、DNA 氧化损伤, 诱发氧化应激 (Oxidative stress), 继而引发肿瘤、动脉粥样硬化、类风湿关节炎、糖尿病、肝损伤、中枢神经系统疾病等。机体中的抗氧化大分子、小分子及抗氧化酶可清除活性氧, 抵御氧化应激; 样本中全部抗氧化组分的综合水平即为总抗氧化能力, 因此体液、细胞及组织样本的总抗氧化能力检测有着重要生物学意义。

总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(ABTS 微板法), 即 Total Antioxidant Capacity Assay Kit(with ABTS), 简称 T-AOC Assay Kit, 采用 ABTS 显色体系, 可检测体液、细胞/组织裂解液、植物、中草药提取液以及抗氧化剂溶液的总抗氧化能力。氧化剂可将 ABTS 氧化为绿色 ABTS^{•+}, 抗氧化物质能够抑制该反应, 通过在 734 nm 或 405 nm 检测吸光度即可计算抗氧化能力。试剂盒选用 Trolox (维生素 E 类似物) 作为参照标准, 以其抗氧化活性为基准, 换算待测样品抗氧化水平。本方案检测速度快, 样品孵育 3~6 min 即可读数, 10~20 份样品可在 20 分钟内完成检测。

自备材料

- 1.实验材料: 植物组织(苹果、香蕉、梨、玉米等)、血液、组织样本
- 2.蒸馏水、无水乙醇、二甲基亚砷、PBS 等
- 3.研钵或匀浆器、离心机、离心管、酶标仪、96 孔板

使用方法(仅供参考)

1.准备样品:

- ① 植物样品: 取正常或特殊条件下的新鲜植物组织, 洗净擦干, 切碎并迅速称取, 按 0.5g 样品: 4.5mL 蒸馏水的比例匀浆或研磨, 4℃ 12000r/min 离心 5min, 取上清备用。
- ② 血浆、血清、唾液和尿液样品: 新鲜取样后可直接用该试剂盒进行测定, 也可以-80℃冻存后再进行测定, 一个月内没有显著变化。【注】血浆制备时不宜使用 EDTA 抗凝。
- ③ 组织样品: 精确称取 50mg 组织, 加入 200μL 预冷的 PBS, 超声或匀浆处理, 充分破碎细胞使其抗氧化物释放出来, 4℃ 12000r/min 离心 5min, 取上清备用。



④ 细胞样品：收集约 100 万个细胞(无需准确计数，直接刮下，不用胰酶或 EDTA 消化处理)，加入 200 μ L 预冷的 PBS，超声或匀浆处理，充分破碎细胞使其抗氧化物释放出来，4 $^{\circ}$ C 12000r/min 离心 5min，取上清备用。

⑤ 抗氧化物质：用水或其他溶剂配制成 0.1~1.5mM，即可用于测定。

⑥ 样品抗氧化能力较强时可用蒸馏水或相应溶剂稀释后再次测定。

2. 配制 ABTS 工作液：应根据待测定样品的数量(含标准曲线)配制适量的 ABTS 工作液。

① 将 ABTS 溶液和氧化剂等体积混合即成 ABTS 工作母液，室温避光存放 12h~16h 后方可使用，配好的 ABTS 工作母液室温避光存放 2~3 天内稳定。【注】20 个待测样品取 ABTS 溶液和氧化剂各 0.1mL 即可。

② 临用前将 ABTS 工作母液用无水乙醇、PBS 或蒸馏水按要求稀释成 ABTS 工作液，当待测样品为非水溶性样品时，用无水乙醇稀释；当待测样品为水溶性样品时，用 PBS 或蒸馏水稀释；ABTS 工作母液的稀释倍数约为 30~55 倍。

【注】ABTS 工作液的吸光度减去相应的空白对照(无水乙醇、PBS 或蒸馏水)的吸光度后，酶标仪(300 μ L) A_{734} 为 0.5~1.5，对应的 A_{405} 为 1.3~3.5；分光光度计(1cm 光径) A_{734} 为 0.7~1.8，对应的 A_{405} 为 1.5~4.0。

3. 配制 Trolox 溶液(10mM)：向 5mg Trolox 中加入 2mL 无水乙醇或二甲基亚砜，充分溶解，即成。

4. 配制 Trolox 标准梯度：用适当溶剂将 Trolox 溶液(10mM)稀释至 0.05、0.15、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5mM；对于血清、血浆、唾液或尿液样品可直接用蒸馏水或 PBS 稀释标准品；对于组织或细胞样品，使用 PBS 或相应的组织裂解液稀释标准品；其他样品用相应的样品配制液稀释标准品。

5. 加样：按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入 96 孔板中，并注意避免产生气泡，小心混匀。ABTS 工作液与待测样品或标准品加入比例为 40:1。室温反应 3~6min 即可测定。如果样品的吸光度值过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。

加入物(μ L)	空白孔	标准孔	测定孔
ABTS 工作液	280	280	280
蒸馏水	7	—	—
系列 Trolox 标准(1~7 号)	—	7	—
待测样品液	—	—	7

6. 测定：用酶标仪检测 405nm 或 734nm 处吸光值，依次记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。

7. 计算：

以系列 Trolox 标准为横坐标，相应吸光度为纵坐标，绘制出总抗氧化能力的标准曲线。根据样品测定管的吸光度值计算出样品相当于多少浓度的 Trolox 标准的抗氧化能力。

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。例如某裂解液样品的蛋白浓度为 0.15mg/mL，测得的抑制率和 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 2mmol/g。

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。例如某样品的浓度为 0.1mg/mL，测得的抑制率和 0.5mM Trolox 相同，则该



样品的总抗氧化能力为 0.5mM/0.1mg/mL，即 5mmol/g。

各种抗氧化物以摩尔浓度表示时，测得的总抗氧化能力用相对总抗氧化能力表示。例如 0.2mM 的某抗氧化物测得的 OD 值和 1mM Trolox 相同，则其相对总抗氧化能力为 5。

血浆、血清、唾液或尿液等混合物的抗氧化能力，可直接用 Trolox 的摩尔浓度来表示。例如某样品测得的抑制率和 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。

$$\text{样品的自由基清除率(\%)} = (A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) / A_{\text{空白}} \times 100$$

8. 参考区间：据文献报道，人血清或血浆的总抗氧化能力为 0.5~2mM，唾液的总抗氧化能力为 0.3~1mM，尿液的总抗氧化能力为 0.2~3mM。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，鲜橙汁的总抗氧化能力为 2.2。

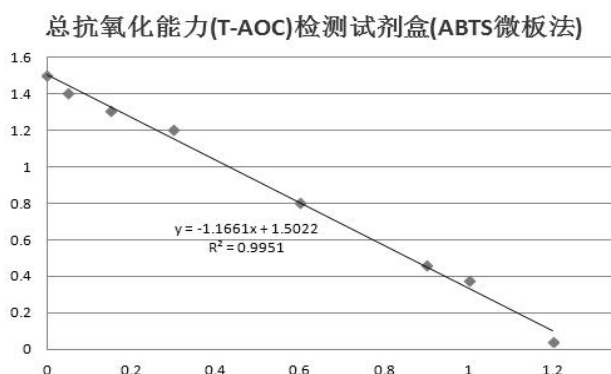
注意事项

1. 实验材料应尽量新鲜，样品提取的整个过程最好在 4℃或冰上操作，如取材后不能立即检测，也可以-80℃冻存后再进行测定(应在 1 个月内测定完毕)。
2. 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。
3. 需使用可以测定 734nm 的酶标仪或可以测定微量样品的分光光度计进行检测。
4. 如果样品在 734nm 检测有困难或受样品干扰，可尝试 405nm 检测；对于细胞或组织样品在 405nm 检测时，可能会因为样品本身的吸光度而对结果产生一定的干扰。
5. ABTS 对人体有刺激性，操作时请小心，并注意做好防护避免直接接触人体或吸入体内。
6. 所有试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
8. 本产品仅限科研实验使用，禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。

附录(仅供参考)：标准曲线制作：在室温条件下操作如下：

0.25mL ABTS 工作母液用 9.75mL 无水乙醇 40 倍稀释成 ABTS 工作液， $A_{734}=0.692$ ， $A_{405}=1.445$ ，用无水乙醇将 Trolox 溶液(10mM)稀释至 0.05、0.15、0.3、0.6、0.9、1、1.2、1.5mM，取 280μL ABTS 工作液再分别加入 7μL 蒸馏水或 Trolox 标准，混匀，室温放置 6min，酶标仪测定 405nm 处各管的吸光度，其数值及标准曲线如下(仅供参考)：

Trolox 标准	吸光度
0	1.500
0.05	1.409
0.15	1.307
0.3	1.207
0.6	0.806
0.9	0.466
1	0.380
1.2	0.045
1.5	0.045



S260801

