版本：精简版　　修改日期：2023.12.25

总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(ABTS 微板法)

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。在细胞或组织的正常生理代谢过程中会产生活性氧，同时一些环境因子例如紫外照射、环境污染等也可以诱导活性氧的产生，活性氧产生后可以导致细胞内脂、蛋白和DNA等的氧化损伤，诱发氧化应激(Oxidative stress)，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(oxidative stress)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。

Leagene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 method，简称T-AOC Assay Kit，是一种采用ABTS作为显色剂，可以对血浆、血清、唾液、尿液等各种体液，细胞或组织等裂解液、植物或中草药抽提液、或各种抗氧化物(antioxidant)溶液的总抗氧化能力进行检测的试剂盒；ABTS法测定T-AOC的检测原理是在氧化剂作用下ABTS被氧化成绿色的$ABTS^{\cdot+}$，在抗氧化物存在时$ABTS^{\cdot+}$的产生被抑制，可在734nm或405nm测定$ABTS^{\cdot+}$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相似的抗氧化能力，可作为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可用其抗氧化能力和Trolox相比的倍数来表示，该试剂盒快捷方便，加入待测样品3~6分钟即可进行吸光度测定，通常10~20个样品可以在20分钟内检测完毕。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称 \ 编号	TO1001 100T	TO1001 300T	TO1001 1000T	Storage
试剂(A): ABTS 溶液	0.5ml	1.5ml	5ml	-20℃ 避光
试剂(B): 氧化剂	0.5ml	1.5ml	5ml	4℃
试剂(C): Trolox 溶液(10mM)	0.1ml	0.2ml	0.5ml	-20℃ 避光
使用说明书	1 份			

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、PBS 等

3、研钵或匀浆器、离心机、离心管、酶标仪、96 孔板

操作步骤(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，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【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，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 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，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样品抗氧化能力较高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【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。

3、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、06、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。

4、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(ul)	空白孔	标准孔	测定孔

www.leagene.com

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

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

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。

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

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、 如测定 734nm 或 405nm 有困难，亦可在 725~745nm 或 400~425nm 范围测定。
5、 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。
6、 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。
7、 据文献报道，人血清或血浆中的总抗氧化能力为 0.5～2mM，唾液中的总抗氧化能力

www.leagene.com

为 0.3～1mM，尿液中的总抗氧化能力为 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。

8、 该试剂盒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。

9、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

10、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效；低温运输，按要求保存。

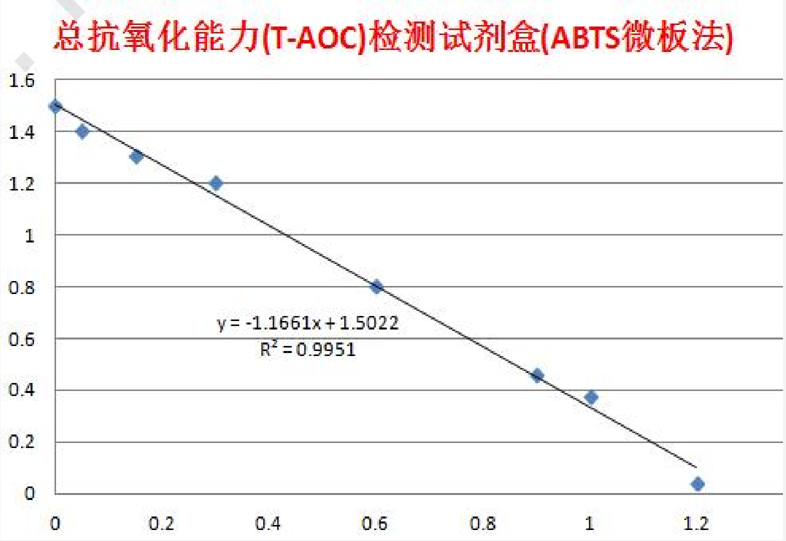
相关产品：

产品编号	产品名称
DP0013	GUS 染色液(即用型)
PE0025	SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×)
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
TO1023	植物丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

附录：标准曲线制作：Leagene 室温条件下操作如下：

0.25ml ABTS 工作母液用 9.75ml 无水乙醇稀释成工作液，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、06、0.9、1、1.2、1.5mM，取 280ul ABTS 工作液再分别加入 7ul 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



www.leagene.com