

总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS法)

产品编号	产品名称	包装
S0119	总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS法)	>300次

产品简介:

- 总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS法), 即Total Antioxidant Capacity Assay Kit with ABTS method, 简称T-AOC Assay Kit, 是一种采用2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (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。
- 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、 γ 射线照射、吸烟、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。
- 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。
- ABTS法测定总抗氧化能力的原理参考图1, ABTS在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的ABTS⁺, 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。

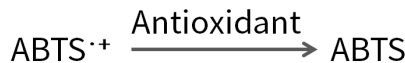


图 1. ABTS 法检测总抗氧化能力的原理图。

- 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。
- 本试剂盒最少可以检测约300个样品。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
S0119-1	ABTS溶液	1ml
S0119-2	氧化剂溶液	1ml
S0119-3	Trolox溶液 (10mM)	0.5ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 一年有效。其中S0119-1 ABTS溶液和S0119-3 Trolox溶液 (10mM)需避光保存。

注意事项:

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

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微升	100微升	200微升	400微升

氧化剂溶液	40微升	100微升	200微升	400微升
ABTS工作母液	80微升	200微升	400微升	800微升

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 ± 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 工作母液的稀释倍数约为 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 工作母液的稀释倍数约为 35-55 倍。

2. 待测样品的准备:

a. 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°C 冻存后再进行测定。-80°C 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。

b. 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°C 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°C 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°C 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°C 冻存。-80°C 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。

c. 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。

3. 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 0.15、0.3、0.6、0.9、1.2 和 1.5mM。

4. 总抗氧化能力的测定:

a. 96 孔板的每个检测孔中加入 200 微升 ABTS 工作液。

b. 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。

c. 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。

d. 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。

e. 总抗氧化能力的表示方式：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。

使用本产品的文献:

- Luo JG, Li L, Kong LY. Preparative separation of phenylpropanoid glycerides from the bulbs of *Lilium lancifolium* by high-speed counter-current chromatography and evaluation of their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 2012 Apr;131(3):1056-62.
- Zhang D, Luo M, Wang W, Zhao C, Gu C, Zu Y, Fu Y, Yao X, Duan M. Variation of active constituents and antioxidant activity in *Pyrola* [*P. incarnata* Fisch.] from different sites in Northeast China *Food Chemistry*. 2013 Dec;141(3):2213-9.
- Zhao P, Duan L, Guo L, Dou LL, Dong X, Zhou P, Li P, Liu EH. Chemical and biological comparison of the fruit extracts of *Citrus wilsonii* Tanaka and *Citrus*

medica L. Food Chem. 2015 Apr 15;173:54-60.

4. Gu Y, Tang X, Xie L, Meng G, Ji Y. Aliskiren improves endothelium-dependent relaxation of thoracic aorta by activating PI3K/Akt/eNOS signal pathway in SHR. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2016 Apr;43(4):450-8.
5. Chen Y, Meng G, Bai W, Ma Y, Xie L, Altaf N, Qian Y, Han Y, Ji Y. Aliskiren protects against myocardial ischaemia-reperfusion injury via an endothelial nitric oxide synthase-dependent manner. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2017 Feb;44(2):266-274.
6. Li W, Li Y, Sun R, Zhou S, Li M, Feng M, Xie Y. Dual character of flavonoids in attenuating and aggravating ischemia-reperfusion-induced myocardial injury. Exp Ther Med. 2017 Aug;14(2):1307-1314.
7. Zhang HT, Zhang ZJ, Mo WC, Hu PD, Ding HM, Liu Y, Hua Q3, He RQ. Shielding of the geomagnetic field reduces hydrogen peroxide production in human neuroblastoma cell and inhibits the activity of CuZn superoxide dismutase. Protein Cell. 2017 Jul;8(7):527-537.
8. Huang C, Cao X, Chen X, Fu Y, Zhu Y, Chen Z, Luo Q, Li L, Song X, Jia R, Yin Z, Feng B, Zou Y. A pectic polysaccharide from Ligusticum chuanxiong promotes intestine antioxidant defense in aged mice. Carbohydr Polym. 2017 Oct 15;174:915-922.
9. Tian R, Zhang LN, Zhang TT, Pang HY, Chen LF, Shen ZJ, Liu Z, Fang Q, Zhang SY. Association Between Oxidative Stress and Peripheral Leukocyte Telomere Length in Patients with Premature Coronary Artery Disease. Med Sci Monitor. 2017 Sep 11;23:4382-4390.
10. Song Q, Liu L, Yu J, Zhang J, Xu M, Sun L, Luo H, Feng Z, Meng G. Dihydromyricetin attenuated Ang II induced cardiac fibroblasts proliferation related to inhibitory of oxidative stress. Eur J Pharmacol. 2017 Jul 15;807:159-167.
11. Xie X, Zheng Y, Liu X, Cheng C, Zhang X, Xia T, Yu S, Wang M. Antioxidant Activity of Chinese Shanxi Aged Vinegar and Its Correlation with Polyphenols and Flavonoids During the Brewing Process. J Food Sci. 2017 Oct;82(10):2479-2486.
12. Hou N, Cai B, Ou CW, Zhang ZH, Liu XW, Yuan M, Zhao GJ, Liu SM, Xiong LG, Luo JD, Luo CF, Chen MS. Puerarin-7-O-glucuronide, a water-soluble puerarin metabolite, prevents angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy by reducing oxidative stress. N-S Arch Pharmacol. 2017 May;390(5):535-545.
13. Wang F, Xiong ZY, Li P, Yang H, Gao W, Li HJ. From chemical consistency to effective consistency in precise quality discrimination of Sophora flower-bud and Sophora flower: Discovering efficacy-associated markers by fingerprint-activity relationship modeling. J Pharmaceut Biomed. 2017 Jan 5;132:7-16.
14. Ma TJ, Lan DH, He SZ, Ye Z, Li P, Zhai W, Chen WQ, Huang Y, Fu Y, Sun A, Wang YB, Ye Z, Li JL, Gao Y, Yan XL, Li ZH. Nrf2 protects human lens epithelial cells against H₂O₂-induced oxidative and ER stress: The ATF4 may be involved. Exp Eye Res. 2018 Feb 2;169:28-37.
15. Zhang S, Xu L, Liu YX, Fu HY, Xiao ZB, She YB. Zhang S, Xu L, Liu YX, Fu HY, Xiao ZB, She YB. Nat Prod Bioprospect. 2018 Feb 27.
16. Wan X, Ahmad H, Zhang L, Wang Z, Wang T. Dietary enzymatically treated Artemisia annua L. improves meat quality, antioxidant capacity and energy status of breast muscle in heat-stressed broilers. J Sci Food Agr. 2018 Jan 9.
17. He TB, Huang YP, Huang Y, Wang XJ, Hu JM, Sheng J. Structural elucidation and antioxidant activity of an arabinogalactan from the leaves of Moringa oleifera. Int J Biol Macromol. 2018 Jan 30;112:126-133.
18. Hua Q, Chen C, Tel Zur N, Wang H, Wu J, Chen J, Zhang Z, Zhao J, Hu G, Qin Y. Metabolomic characterization of pitaya fruit from three red-skinned cultivars with different pulp colors. Plant Physiol Bioch. 2018 Mar 2;126:117-125.
19. He TB, Huang YP, Huang Y, Wang XJ, Hu JM, Sheng J. Structural elucidation and antioxidant activity of an arabinogalactan from the leaves of Moringa oleifera. Int J Biol Macromol. 2018 Jun;112:126-133.
20. Zhao C, Xia T, Du P, Duan W, Zhang B, Zhang J, Zhu S, Zheng Y, Wang M, Yu Y. Chemical Composition and Antioxidant Characteristic of Traditional and Industrial Zhenjiang Aromatic Vinegars during the Aging Process. Molecules. 2018 Nov 12;23(11). pii: E2949.

Version 2020.05.19