

羟自由基清除能力含量检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0276	羟自由基清除能力含量检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 12mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂二	液体 6mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂三	液体 12mL × 1 瓶	4℃
试剂四	液体 6mL × 1 瓶	4℃

一、产品说明

羟自由基作用于体内蛋白质、核酸、脂类等生物分子, 造成细胞结构和功能受损, 进而导致体内代谢紊乱引起疾病。羟自由基清除能力是样品抗氧化能力的重要指标之一, 在抗氧化类保健品和药品研究中得到广泛应用。

H_2O_2/Fe^{2+} 通过 Fenton 反应产生羟自由基, 将邻二氮菲- Fe^{2+} 水溶液中 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} , 导致 536nm 吸光度下降, 样品对 536nm 吸光度下降速率的抑制程度, 反映了样品清除羟自由基的能力。

二、自备材料

恒温水浴锅、酶标仪、96 孔板和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞或者细菌: 按照 500 万或 1000 万细胞加入 1mL 蒸馏水, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 然后 10000g, 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血清、果汁等液体样品可直接测定。
- 4、提取物 (或者药物) 可配制成一定浓度, 如 5 mg/mL。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 536nm, 蒸馏水调零。
- 2、工作液配制: 使用之前按照每管试剂一: 试剂二: 试剂三 = 100:50:100 (μ L) 的比例配制, 用多少配多少, 混匀。
- 3、操作表:

试剂名称 (μL)	空白管	对照管	测定管
工作液	250	250	250
混匀, 防止局部颜色过浓。			
样品			50
试剂四		50	50
H ₂ O	100	50	
混匀, 37℃保温 60min, 8000g 25℃离心 5min, 吸取 200μL 于 96 孔板中测定 536nm 处吸光值, 空白管、对照管和测定管的吸光值分别记为 A 空、A 对和 A 测。 注意: 空白管和对照管只需测定一次。			

五、计算公式

羟自由基清除率 $D\% = (A_{\text{测}} - A_{\text{对}}) \div (A_{\text{空}} - A_{\text{对}}) \times 100\%$ 。

A 空、A 对、A 测: 空白管、对照管和测定管的吸光值。

六、注意事项

- 1、为了比较不同样品羟自由基清除能力, 对于同一批样品必须加入等量的样品, 血清、组织匀浆、果汁等液体样品加入同样体积, 提取物 (或者药物) 配制成同样浓度。