

## 羟自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1255

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

羟自由基是人体在新陈代谢过程中产生的对生物体毒性强、危害大的一种自由基。它可以使组织中的糖类、氨基酸、蛋白质、核酸等物质发生氧化，遭受氧化性损伤和破坏，导致细胞坏死或突变。羟自由基清除能力是样本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的吸光度下降，样本536nm吸光度下降速率的抑制程度，反映了样本清除羟自由基的能力。

**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体110mL×1瓶	4℃
试剂一	液体8mL×1瓶	4℃
试剂二	液体15mL×1瓶	4℃
试剂三	液体15mL×1瓶	4℃
试剂四	液体0.16mL×1瓶	4℃

溶液的配制：

1. 试剂四：液体置于试剂瓶内EP管中。临用前加入9.84mL蒸馏水混匀，也可按比例现用现配，配好的试剂4℃保存一周。

### 需自备的仪器和用品：

恒温水浴锅、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、低温离心机、研钵/匀浆器和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织样本的制备：称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆；10000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 血清、果汁等液体样本可直接测定。
3. 提取物（或者药物）可配制成一定浓度，如5mg/mL。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至536nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：在1.5或0.5mLEP管中分别加入下列试剂

	空白管	对照管	测定管
试剂一（ $\mu$ L）	50	50	50
试剂二（ $\mu$ L）	100	100	100
试剂三（ $\mu$ L）	100	100	100



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

充分混匀，防止颜色不均一			
样本 (μL)			50
试剂四 (μL)		50	50
H <sub>2</sub> O (μL)	100	50	
混匀后 37°C 孵育 60min。10000rpm 常温离心 10min，取 200μL 上清于微量玻璃比色皿或者 96 孔板中分别测定 536nm 处的吸光度。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。（对照管和空白管只测 1-2 次）			

### 三、计算公式

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

#### 注意事项:

1. 为了比较不同样本羟自由基清除能力，对于同一批样本必须加入等量的样本，血清、组织匀浆、果汁等液体样本加入同样体积，提取物（或者药物）配制成同样浓度。
2. 样本过多时，可以按体积比试剂一：试剂二：试剂三=0.15：0.3：0.3 的比例配制工作液，现用现配。

#### 实验实例:

1. 取 0.1g 脾脏加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算：羟自由基清除率  $D\% = (A \text{ 测} - A \text{ 对}) \div (A \text{ 空} - A \text{ 对}) \times 100\% = (0.77 - 0.222) \div (0.884 - 0.222) \times 100\% = 82.78\%$ 。
2. 取 0.1g 稗草叶加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算：羟自由基清除率  $D\% = (A \text{ 测} - A \text{ 对}) \div (A \text{ 空} - A \text{ 对}) \times 100\% = (0.698 - 0.222) \div (0.884 - 0.222) \times 100\% = 71.9\%$ 。
3. 取兔血清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算：羟自由基清除率  $D\% = (A \text{ 测} - A \text{ 对}) \div (A \text{ 空} - A \text{ 对}) \times 100\% = (0.553 - 0.222) \div (0.884 - 0.222) \times 100\% = 50\%$ 。

#### 相关发表文献:

- [1] Hu J, Wang Q, Wang Y, et al. Polydopamine-Based Surface Modification of Hemoglobin Particles for Stability Enhancement of Oxygen Carriers[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2020.
- [2] Liang R, Zhao J, Li B, et al. Implantable and degradable antioxidant poly (ε-caprolactone)-lignin nanofiber membrane for effective osteoarthritis treatment[J]. Biomaterials, 2020, 230: 119601.
- [3] Yang Y, Liu M, Wang K, et al. Chemical and cytological evaluation of honeybee pollen antioxidant ability[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(3): 824-833.



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com