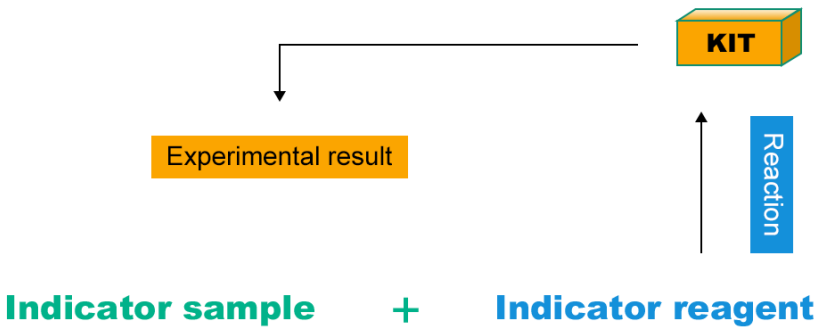
上海茁彩生物科技有限公司

ZCIBIO Technology Co.,Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO：ZC-S0355 Size：100T/96S

羟自由基清除能力检测试剂盒说明书

微量法

***正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定**

一、测定意义：

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。

二、测定原理：

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。

三、需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、恒温水浴锅。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	

五、操作步骤：

- 样品的制备：

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. 血清、果汁等液体样品可直接测定。

3. 提取物（或者药物）可配制成一定浓度，如 5mg/mL。

- 操作步骤

(1) 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 536nm，蒸馏水调零。

(2) 操作表

	空白管	对照管	测定管
试剂一（μL）	30	30	30
试剂二（μL）	80	80	80
试剂三（μL）	20	20	20
立即混匀，防止局部颜色过浓			
样品（μL）			50
试剂四（μL）		20	20
H_2O（μL）	70	50	
混匀 37℃，60min，于微量石英比色皿/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：空白管和标准管只需测定一次。

六、计算公式：

羟自由基清除率 D% =（A 测-A 对）÷（A 空-A 对）×100%

A 空、A 对、A 测：空白管、对照管和测定管的吸光值。

七、注意事项：

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。