

羟自由基清除能力试剂盒说明书

(货号:G0125W 微板法 96 样)

一、产品简介:

Fenton 反应是最常见的产生羟自由基的化学反应, H_2O_2 的量和 Fenton 反应产生的 $OH\cdot$ 量成正比, Fenton 反应生成的羟自由基与水杨酸反应, 生成物在 510nm 处有特殊吸收。采用固定反应时间法, 根据测试物在 510nm 处吸光度值的大小来判断测试物清除羟自由基的能力。

二、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加 12mL 无水乙醇, 充分溶解备用。
试剂三	液体×1 支	4℃保存	临用前甩几下或离心使试剂落入底部, 取 60μL 至新的容器中, 再加 6mL 蒸馏水溶解备用。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、水浴锅、离心机、研钵、可调式移液器、冰、蒸馏水。

四、羟自由基清除能力测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取 0.1g 样本 (若是干样可取 0.02-0.05g), 加入 1mL 的 80%乙醇 (自备) 进行匀浆, 匀浆后转入 2mL 离心管中; 于 50℃, 200-300W 条件下超声提取 10min (间隔 5min 振荡混匀一次)。12000rpm, 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

② 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 调节波长至 510nm。

② 不同样本清除能力不一, 可先选取 2 个样本做检测, 若 A 测定-A 对照接近零, 需对样本进行稀释 (用提取液稀释即可) 后再检测, 或降低样本加样量 (如减至 20μL, 蒸馏水相应增加)。

③ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照	空白 (仅做一次)
试剂一	50	50	50
试剂二	50	50	50
样本	50	50	
蒸馏水	200	250	250
试剂三	50		50
混匀, 37℃反应 20min (准确时间), 取 200μL 转移至 96 孔板内, 立即于 510nm 处读取各管吸光值 A。			

五、结果计算:

羟自由基清除率(%)=[A 空白-(A 测定-A 对照)]÷A 空白×100%