

羟自由基清除能力检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC1320

规格: 50T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 55 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 0.16 mL×1 支	2-8℃保存

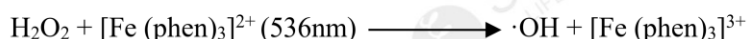
溶液的配制:

- 1、试剂四: 试剂放于试剂瓶内 EP 管中。临用前加入 9.84 mL 蒸馏水混匀, 也可按比例现用现配, 配好的试剂 2-8℃保存 4 周。

产品说明:

羟自由基是机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。

$\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 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。水溶性多糖样本推荐使用BC5150/BC5155 试剂盒测定。



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。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、天平、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

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。若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。
- 3、提取物 (或者药物) 可配制成一定浓度, 如 5mg/mL。脂溶性样本推荐使用 DMSO 溶解测定, 不推荐使用乙醇溶解。

二、测定步骤





1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至536nm，蒸馏水调零。

2. 操作表：在1.5mLEP管中分别加入下列试剂

试剂名称	空白管	对照管	测定管
试剂一 (mL)	0.15	0.15	0.15
试剂二 (mL)	0.3	0.3	0.3
试剂三 (mL)	0.3	0.3	0.3
充分混匀，防止颜色不均一			
样本 (mL)	-	-	0.15
试剂四 (mL)	-	0.15	0.15
H ₂ O (mL)	0.75	0.60	0.45
涡旋混匀，置于 37°C水浴锅/恒温培养箱准确反应 60min。10000rpm，常温离心 10min，取各上清分别测定 536nm 处的吸光度，分别记为 A 空、A 对和 A 测。空白管和对照管只需测定 1-2 次。			

三、计算公式

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

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 肾脏加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，测得计算：羟自由基清除率 $D\% = (A_{\text{测}} - A_{\text{对}}) \div (A_{\text{空}} - A_{\text{对}}) \times 100\% = (0.889 - 0.209) \div (0.959 - 0.209) \times 100\% = 90.67\%$ 。
- 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，测得计算：羟自由基清除率 $D\% = (A_{\text{测}} - A_{\text{对}}) \div (A_{\text{空}} - A_{\text{对}}) \times 100\% = (0.796 - 0.209) \div (0.959 - 0.209) \times 100\% = 78.27\%$ 。
- 3、取兔血清后按照测定步骤操作，测得计算：羟自由基清除率 $D\% = (A_{\text{测}} - A_{\text{对}}) \div (A_{\text{空}} - A_{\text{对}}) \times 100\% = (0.629 - 0.209) \div (0.959 - 0.209) \times 100\% = 56\%$ 。

相关发表文献：

[1] Fan Y, Zhang Y, Shi K, Cheng S, Pei D, Shu X. Identification of a group of bisbenzylisoquinoline (BBIQ) compounds as ferroptosis inhibitors. Cell Death Dis. 2022 Nov 26;13(11):1000. doi: 10.1038/s41419-022-05447-8. PMID: 36435804; PMCID: PMC9701226.

[2] Zhang S, He Z, Cheng Y, Xu F, Cheng X, Wu P. Physicochemical characterization and emulsifying properties evaluation of RG-I enriched pectic polysaccharides from Cerasus humilis. Carbohydr Polym. 2021 May 15;260:117824. doi: 10.1016/j.carbpol.2021.117824. Epub 2021 Feb 16. Erratum in: Carbohydr Polym. 2021 Jul 15;264:118007. PMID: 33712165.

[3] Du Y, Zhang S, Sun-Waterhouse D, Zhou T, Xu F, Waterhouse GIN, Wu P. Physicochemical, structural and emulsifying properties of RG-I enriched pectin extracted from unfermented or fermented cherry pomace. Food Chem. 2023 Mar 30;405(Pt B):134985. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.134985. Epub 2022 Nov 17. PMID: 36442238.



[4] Lin D, Yan R, Xing M, Liao S, Chen J, Gan Z. Fucoidan treatment alleviates chilling injury in cucumber by regulating ROS homeostasis and energy metabolism. *Front Plant Sci.* 2022 Dec 23;13:1107687. doi: 10.3389/fpls.2022.1107687. PMID: 36618644; PMCID: PMC9816408.

[5] Zhang L, Qu H, Xie M, Shi T, Shi P, Yu M. Effects of Different Cooking Methods on Phenol Content and Antioxidant Activity in Sprouted Peanut. *Molecules.* 2023 Jun 10;28(12):4684. doi: 10.3390/molecules28124684. PMID: 37375239; PMCID: PMC10300812.

参考文献:

[1] Takeshi Nagai, Reiji Inoue, Hachiro Inoue. et al. Scavenging capacities of pollen extracts from *cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals [J]. *Nutrition Research*, 2002, 22(4): 519-526.

[2] Tsai CH, Stern A, Chiou JF. et al. Rapid and specific detection of hydroxyl radical using an ultraweak chemiluminescence analyzer and a low-level chemiluminescence emitter: application to hydroxyl radical-scavenging ability of aqueous extracts of Food constituents[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(5): 2137-2141.

相关系列产品:

BC1300/BC1305 铜蓝蛋白 (Cp) 活性检测试剂盒

BC1310/BC1315 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒

BC1370/BC1375 总巯基含量检测试剂盒

