

## 羟自由基清除率检测试剂盒(Fenton 微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 产品简介:

在生命活动的代谢过程中不断产生各种自由基,其中羟自由基·OH是体内最活跃的活性氧,可介导许多生理变化,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,如引发不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,并损伤膜结构和功能。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。

羟自由基清除率检测试剂盒(Fenton 微板法)又称羟自由基清除能力检测试剂盒或羟自由基检测试剂盒,其检测原理是H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>通过Fenton反应产生羟自由基,并将Fe<sup>2+</sup>氧化为Fe<sup>3+</sup>,导致红色的邻二氮菲-Fe<sup>2+</sup>氧化为无色的邻二氮菲-Fe<sup>3+</sup>,使邻二氮菲-Fe<sup>2+</sup>在536nm处的最大吸收峰消失,可通过酶标仪测定530~540nm处吸光度的变化,据此可计算出羟自由基的含量变化,即可计算出样品的羟自由基清除率或清除能力,主要用于植物组织、血清、血浆等样本。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

名称	规格	保存条件
羟自由基清除率检测试剂盒	100T	4℃
试剂(A):邻二氮菲溶液	15ml	4℃
试剂(B):OHAssayBuffer	20ml	RT
试剂(C):亚铁显色液	10ml	4℃
试剂(D):氧化剂	10ml	4℃
使用说明书	1份	
有效期	6个月	

### 自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、实验材料:植物组织(芹菜、绿豆、玉米等叶片)、血液、组织样本等
- 3、研钵或匀浆器
- 4、离心机、离心管或试管
- 5、水浴锅
- 6、酶标仪、96孔板

### 操作步骤(仅供参考):

### 1、准备样品：

- ①植物样品：取正常或逆境下的新鲜植物组织，清洗干净，擦干，切碎，迅速称取，按 1~1.5g 样品：4.5ml 蒸馏水的比例匀浆或研磨，室温静置 4h，3000g 离心 30min，上清液即为羟自由基粗提液，4℃ 保存备用(亦可参考相关资料提取方法提取)。
- ②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于该试剂盒的测定，4℃ 保存，用于羟自由基的检测。
- ③高活性样品：如果样品中含有较高浓度的羟自由基，可用蒸馏水进行恰当的稀释。

2、·OH 加样：按照下表设置空白管、未损伤管、损伤管、对照管、测定管，溶液应按照规定顺序依次加入，然后，置各管于 37℃ 水浴锅保温 1h；如果样品中的羟自由基(·OH)浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	空白管	未损伤管	损伤管	对照管	测定管
邻二氮菲溶液	—	0.15	0.15	—	0.15
OH Assay Buffer	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
亚铁显色液	—	0.1	0.1	—	0.1
蒸馏水	0.8	0.55	0.45	0.7	0.35
待测样品	—	—	—	0.1	0.1
氧化剂	—	—	0.1	—	0.1

3、·OH 测定：取 96 孔板，将各管溶液依次吸取 300ul 加至 96 孔板中，用酶标仪检测 530~540nm 处各孔吸光度值，依次记为 A0、A1、A2、A3'、A3。

### 计算：

$$\text{组织样品 } \cdot \text{OH 清除率}(\%) = \frac{(A3 - A3') - (A2 - A0)}{(A1 - A0) - (A2 - A0)} \times 100$$

$$= \frac{(A3 - A3') - (A2 - A0)}{(A1 - A2)} \times 100$$

备注：A0=空白管的吸光度值

A1=未损伤管的吸光度值

A2=损伤管的吸光度值

A3'=对照管的吸光度值

A3=测定管的吸光度值

### 注意事项：

- 1、实验材料应尽量新鲜，如取材后不能立即检测，应存于 4℃。
- 2、测定过程中的干扰因素较多，容易对测定的准确性和灵敏度造成影响。
- 3、水浴的温度和时间应一致。
- 4、如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，但应考虑酶标仪的最大检测体积。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。