

CheKine™ 羟自由基清除能力检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1091

规格: 48 T/48 S 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本：动植物组织、血清（浆）、细胞、细菌、细胞上清、果汁、蜂蜜、尿液等样本
	保质期：4℃，避光保存 12 个月

01 背景与原理

羟自由基·OH 是氢氧根离子 (OH⁻) 的中性形式，具有较强的氧化能力。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。

本试剂盒检测原理是 H₂O₂/Fe²⁺ 通过 Fenton 反应产生羟自由基，水杨酸能有效捕捉产生的羟自由基并与其反应生成紫色的 2,3-二羟基苯甲酸。加入具有清除羟自由基的物质后，抑制紫色产物的形成。因此显色越深，说明羟自由基含量越高，反之含量越低。测定其在 520 nm 处吸光值的变化即可计算出样本清除羟自由基的能力。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Ferrous Salt	10 mL	20 mL	4℃，避光保存
H₂O₂	5 mL	10 mL	4℃，避光保存
Salicylic Acid	10 mL	20 mL	4℃，避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 520 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通酶标板
试剂	PBS (pH 7.4)	用于清洗样本
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、冰盒、低温离心机、 可调式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Ferrous Salt	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存。具有腐蚀性，建议使用时做好个人防护。
H ₂ O ₂	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存。
Salicylic Acid	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存。对皮肤和黏膜具有刺激性，建议使用时做好个人防护。

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。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稀释倍数相同，提取物或者药物配制成同样浓度。

- 动物组织样本：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 去离子水，冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10 min，取上清液置冰上待测。
- 植物组织样本：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 去离子水捣碎，冰浴超声破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），10000 g，4℃离心 10 min，取上清液置冰上待测。
- 细胞（菌）：收集 5×10⁶ 个细胞或细菌到离心管中，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1 mL 去离子水，冰浴超声破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 10000 g，4℃离心 10 min，取上清液置冰上待测。
- 血清（浆）等蛋白含量高或浑浊的液体：取 0.1 mL 样本，加入 1 mL 去离子水混匀，10000 g，4℃离心

10 min, 取上清液置冰上待测。

- 蜂蜜和尿液等蛋白含量低且清澈的液体：直接检测。
- 提取物或者药物：可配制成一定浓度，如 0.5 mg/mL 进行测定。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 520 nm。
2. 检测体系配制：在 96 孔板中按照如下方式操作。空白管和标准管只需做 1-2 次。每个测定孔需要设置一个对照孔。

试剂	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)
Ferrous Salt	40	40	40	40
H ₂ O ₂	0	40	40	0
去离子水	120	80	40	80
Salicylic Acid	40	40	40	40
样本	0	0	40	40

3. 吸光度检测：混匀，37℃反应 20 min，在 520 nm 处读取吸光度值，分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 和 $A_{\text{对照}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)进入“技术中心”查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 样本羟自由基清除率计算

羟自由基清除率 $D\% = (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{测定}}) \div \Delta A_{\text{标准}} \times 100\%$

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 油桃果肉, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 1.020 - 0.051 = 0.969$, $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.465 - 0.052 = 0.413$, 计算羟自由基清除率 $D\% = (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{测定}}) \div \Delta A_{\text{标准}} \times 100\% = (0.969 - 0.413) \div 0.969 \times 100\% = 57.38\%$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.02$, 可适当增加样本量, 再重新进行测定。如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > \Delta A_{\text{标准}}$, 样本可用去离子水进一步稀释或减少提取用样本量, 再重新进行测定。

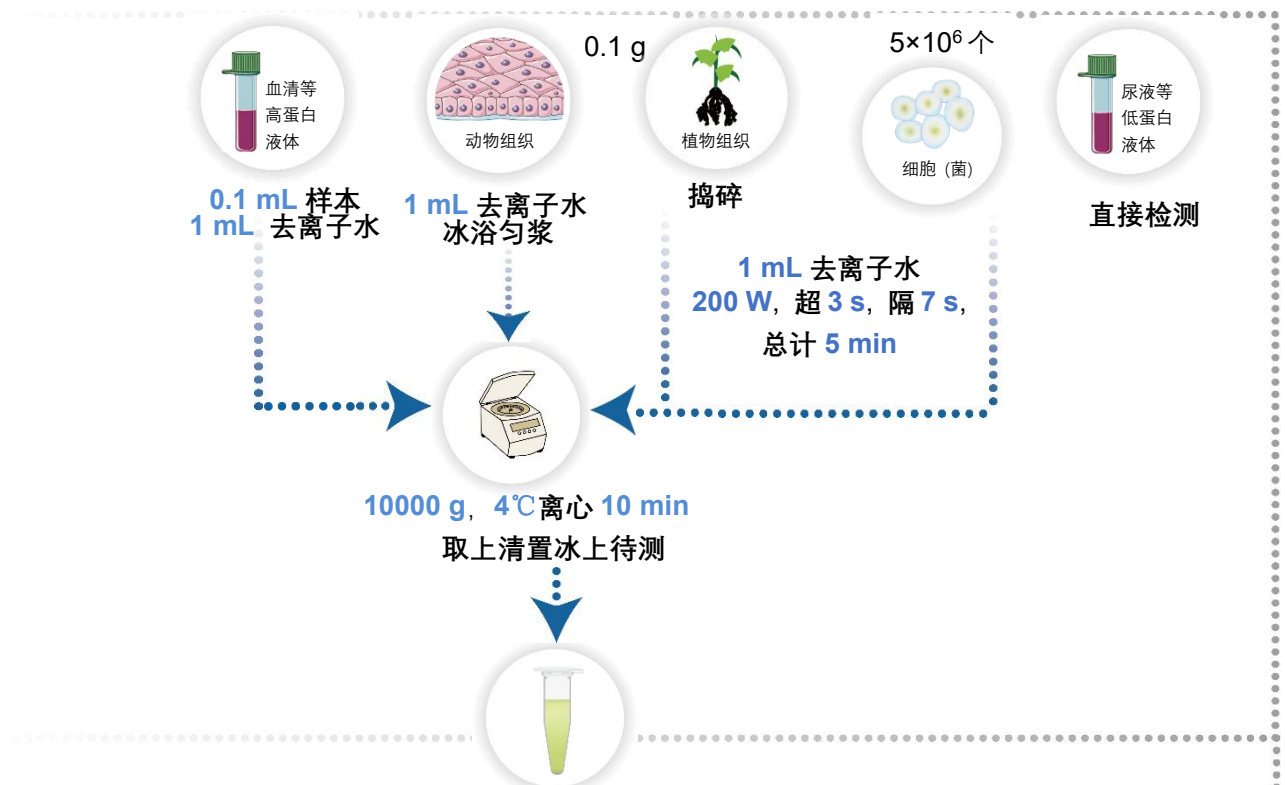
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1500	CheKine™ 总抗氧化能力（TAC）检测试剂盒（微量法）
KTB1510	CheKine™ 尿酸（UA）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1520	CheKine™ 植物原花青素（OPC）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1530	CheKine™ 植物类黄酮含量检测试剂盒（微量法）
KTB1540	CheKine™ 植物总酚（TP）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1550	CheKine™ 铜蓝蛋白（Cp）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 羟自由基清除能力检测流程示意图

(Abbkine 货号: KTB1091)

样本处理



体系配置

测定孔	对照孔	标准孔	空白孔
Ferrous Salt 40 μL	Ferrous Salt 40 μL	Ferrous Salt 40 μL	Ferrous Salt 40 μL
H ₂ O ₂ 40 μL	去离子水 80 μL	H ₂ O ₂ 40 μL	去离子水 120 μL
去离子水 40 μL	Salicylic Acid 40 μL	去离子水 80 μL	Salicylic Acid 40 μL
Salicylic Acid 40 μL	样本 40 μL	Salicylic Acid 40 μL	
样本 40 μL			

充分混匀, 37°C 孵育 20 min

数据检测

测定 520 nm 吸光度
结果计算