

羟自由基清除能力检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHE4-M48	羟自由基清除能力检测试剂盒	48T	微量法
PYHE4-M96		96T	

一、测定意义：

羟自由基（·OH）是植物体内活性氧（ROS）中氧化活性最强的种类，过量积累会攻击核酸、蛋白质及细胞膜脂质，引发氧化损伤并干扰光合作用、物质代谢等生理过程。测定植物中羟自由基含量，可评估环境胁迫下植物氧化应激的程度，为解析植物抗氧化防御机制、筛选抗逆品种提供关键指标。

二、测定原理：

H₂O₂/Fe²⁺通过 Fenton 反应产生羟自由基，Fenton 反应是最常见的化学反应，样本 510nm 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。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 0.5mL×1 支	液体 1mL×1 支	2-8℃保存
试剂二的配置：使用前用双蒸水 100 倍稀释，即取 0.1ml 试剂二加入 9.9ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			
试剂三	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取

上清即为粗酶液，置于冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 510nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前试剂回复至室温；
- 3、样本测定（在 96 孔板中依次加入下列试剂）：

试剂名称	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
样本（μL）	-	-	60	60
蒸馏水（μL）	60	120	-	60
试剂一（μL）	60	60	60	60
试剂二（μL）	60	-	60	-
试剂三（μL）	30	30	30	30
充分混匀，37℃ 孵育 15 分钟，510nm 波长，酶标仪测定各孔吸光度值 A，记为 A _{测定} 、A _{对照空白} 、A _{测定} 和 A _{测定空白} 。计算 $\Delta A_{\text{对照}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{对照空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{测定空白}}$ 。对照孔、对照空白孔只需要做 1-2 孔。				

五、羟自由基清除能力测定：

待测样本羟自由基清除能力计算公式：

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

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日