

超氧阴离子自由基清除能力测试试剂盒

(A002- 192T 酶标板法)

一、测定原理

该方法利用 NADH-PMS-NBT 为超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)生成系统, 超氧阴离子清除剂能减少 NBT 的蓝色。通过检测 560nm 处吸光值可判断体系中还原物质的还原能力。

二、试剂组成

试剂一: 液体 50mL×1 瓶;

试剂二: 液体 200 μ L 一瓶;

试剂三: 粉剂一支;

试剂四: 粉剂一支;

试剂五: 1mM EGCG (表没食子儿茶素没食子酸酯)阳性对照, 10%乙醇溶解, 1 mL。

三、储存条件及有效期

试剂盒-20 $^{\circ}$ C可保存 3 个月。

四、试剂的配制

试剂二工作液: 加入 10mL 试剂一, 充分摇匀, 现配现用, 注意避光;

试剂三工作液: 加入 10mL 试剂一, 充分摇匀, 现配现用, 配好后冰上保存, 2h 内使用;

试剂四工作液: 用 50mL 双蒸水溶解, 摇匀后, 取 1mL, 加入 9mL 试剂一, 现配现用, 注意避光, 配好的试剂请于 2 小时内用完。

试剂五: 阳性对照, 按需使用, -20 $^{\circ}$ C保存。

五、操作步骤

	空白孔 ¹	测定孔	对照孔 ²
试剂一 (μ L)	50		50
试剂二工作液 (μ L)	50	50	50
试剂三工作液 (μ L)	50	50	

样品 (μL)		50	50
---------	--	----	----

充分混匀

试剂四工作液 (μL)	50	50	50
-------------	----	----	----

充分混匀，室温避光静置 5min 使之充分反应。560nm 处采用酶标仪测定吸光值。

¹空白管很重要，建议做 3 个以上平行；

²如样品颜色较浅可不作对照管

六、计算公式

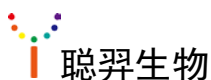
$$\text{超氧阴离子自由基清除能力 (\%)} = \frac{\text{空白孔吸光值} - (\text{测定孔吸光值} - \text{对照孔吸光值})}{\text{空白孔吸光值}} \times 100$$

注： 1 如未做对照孔，可以将其视作为 0；

2 阳性对照求值时将其视作测定孔进行计算即可。

七、注意事项

1. 如样品中色素物质不是分析对象，建议先进行脱色处理，处理后样品可不作对照孔；
2. 如不确定样品的超氧阴离子自由基清除能力，可先做不同浓度的稀释液进行摸索，并选择适宜浓度进行测定，高浓度下，浓度与清除率间并不线性相关。
3. 试剂二、三切记全程低温操作，尤其试剂三，长时间室温放置或反复冻融会使其失效。试剂四切记避光保存，特别是配制后，需用铝箔纸包裹，且应尽快用完。建议在做好一切其它准备工作后再配制试剂四应用液。试剂四正常颜色为黄色，强光照射下，5-10 分钟内会变为绿色，随后变为蓝色，变色后试剂不可再用！
4. 试剂二、三应用液和样品混匀后再加入试剂四，次序颠倒会导致不显色。
5. 部分物质会导致显色加深，导致求得的抑制率是负值，如遇到此类现象请先确定该物质是否具有超氧阴离子清除能力，再考虑更换方法，如邻苯三酚自氧化法等进行测试。



上海琮益科技有限公司

官方网站： www.congyibio.com

技术支持： info@congyi-tech.com



图形及“聪羿生物®”均为上海琮益科技有限公司注册商标。