

# 超氧阴离子自由基清除能力测试试剂盒

(A002-96T 分光光度计法)

## 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 40mL×1 瓶;

试剂二: 液体 1mL×2 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, 5mL。

## 三、储存条件及有效期

试剂盒-20°C可保存 6 个月。

## 四、试剂的配制

试剂一工作液: 用时加双蒸水 360mL, 也就是 10 倍稀释, 得到 400mL 试剂一工作液;

试剂二工作液: 试剂二工作液由试剂二加上 98mL 试剂一工作液配得(注意试剂二有两瓶, 需一起配制。若只想使用 1 瓶, 请加入 49mL 试剂一工作液), 现配现用, 注意避光;

试剂三工作液: 试剂三工作液由试剂三溶解于 100mL 试剂一工作液配得, 现配现用;

试剂四工作液: 粉剂一支。用 50mL 双蒸水溶解, 摇匀后, 取 10mL, 加入 90mL 试剂一, 配成试剂四工作液, 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, 按需配制, -20°C保存。

## 五、操作步骤

|             | 空白孔 <sup>1</sup> | 测定孔 | 对照孔 <sup>2</sup> |
|-------------|------------------|-----|------------------|
| 试剂一 (mL)    | 1                |     | 1                |
| 试剂二工作液 (mL) | 1                | 1   | 1                |
| 试剂三工作液 (mL) | 1                | 1   |                  |

|         |  |   |   |
|---------|--|---|---|
| 样品 (mL) |  | 1 | 1 |
|---------|--|---|---|

充分混匀

|             |   |   |   |
|-------------|---|---|---|
| 试剂四工作液 (mL) | 1 | 1 | 1 |
|-------------|---|---|---|

充分混匀，室温避光静置 5min 使之充分反应。560nm 处，1cm 光径比色杯，采用分光光度计测定吸光值。

<sup>1</sup>空白管很重要，建议做 3 个以上平行；

<sup>2</sup>如样品颜色较浅可不作对照管

## 六、计算公式

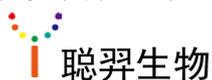
$$\text{超氧阴离子自由基清除能力 (\%)} = \frac{\text{空白孔吸光值} - (\text{测定孔吸光值} - \text{对照孔吸光值})}{\text{空白孔吸光值}} \times 100$$

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，建议先通过 SEP C18 柱进行脱色处理，处理后样品可不做对照孔；
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. 试剂三建议全程冰上操作。试剂四切记避光保存，特别是配制后，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。



上海琮益科技有限公司

官方网站: [www.congyibio.com](http://www.congyibio.com)

技术支持: [info@congyi-tech.com](mailto:info@congyi-tech.com)