

## 植物超氧阴离子 ( $O_2^-$ ) 含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHE1-C24	超氧阴离子 ( $O_2^-$ ) 含量 检测试剂盒	24T	常量法
PMHE1-C48		48T	常量法

### 一、测定意义：

超氧阴离子是植物体内最先产生的活性氧自由基之一。植物超氧阴离子水平，对评估样本遭受环境胁迫的严重程度、自身抗氧化防御能力的强弱以及潜在的氧化损伤风险，都具有重要的理论和应用价值。

### 二、测定原理：

超氧阴离子与盐酸羟胺反应生成  $NO_2^-$ ， $NO_2^-$  在对氨基苯磺酰胺和蔡乙二胺盐酸盐的作用下，生成紫红色的偶氮化合物，在 530nm 有特征吸收峰，根据  $A_{530}$  值可以计算样本中  $O_2^-$  含量。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
提取液	液体 40mL×1 瓶	液体 80 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品 (10 $\mu$ mol/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	2-8℃ 保存
氯仿 (自备)	-	-	常温保存

### 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)，旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 530nm，蒸馏水调零。
- 2、标准溶液的制备：将标准溶液用双蒸水稀释为 0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125 $\mu$ mol/mL 的标准溶液备用。
- 3、操作表

试剂名称	空白管	标准管	测定管
样本 ( $\mu$ L)	-	-	200
标准品 ( $\mu$ L)	-	200	-
提取液 ( $\mu$ L)	500	500	500
试剂一 ( $\mu$ L)	400	400	400
混匀，37℃ 准确反应 20min			
试剂二 ( $\mu$ L)	300	300	300
试剂三 ( $\mu$ L)	300	300	300
混匀，常温反应 20min			
氯仿 ( $\mu$ L)	500	500	500
混匀，8000rpm，常温离心 5min，取上层液体 1mL，空白管调零，530nm 处读取各管吸光度值。分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。			

#### 五、超氧阴离子含量计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值  $\Delta A_{\text{标准}}$  为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线  $y = kx + b$ ， $x$  为吸光度值， $y$  为标准品浓度浓度 ( $\mu$ mol/mL)。根据标准曲线，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入公式计算出样本浓度 ( $y$ ,  $\mu$ mol/mL)；

#### 2、超氧阴离子含量计算

##### (1) 按样本蛋白浓度计算

**计算公式:** 超氧阴离子含量 ( $\mu\text{mol}/\text{mgprot}$ ) =  $y \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times C_{\text{pr}})$

$$= y \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算

**计算公式:** 超氧阴离子含量 ( $\mu\text{mol}/\text{g}$ ) =  $y \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}} \times W)$

$$= y \div W$$

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.2mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL;  $C_{\text{pr}}$ :

样本蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g。

## 六、注意事项:

1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度

进行预试, 以选取最佳取样浓度; 根据预实验结果, 可以增加样本取样量或者稀释样本进行正式实验。

2、氯仿具有毒性、腐蚀性, 做好防护措施。

## 【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