

植物超氧阴离子（O²⁻）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-M48	超氧阴离子（O ²⁻ ）含量检测试剂盒	48T	微量法
PMHE1-M96		96T	微量法

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 NO²⁻，NO²⁻在对氨基苯磺酰胺和萘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 A530 值可以计算样本中 O²⁻ 含量。

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 120 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 4mL×1 瓶	液体 8mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三	液体 4mL×1 瓶	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品 (10μmol/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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 530nm。

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、0.003125μmol/mL 的标准溶液备用。

3、操作表(在离心管中加入以下试剂)：

试剂名称	空白管	标准管	测定管
样本（μL）	-	-	40
不同浓度标准液（μL）	-	40	-
提取液（μL）	100	100	100
试剂一（μL）	80	80	80
混匀，37℃ 准确反应 20min			
试剂二（μL）	60	60	60
试剂三（μL）	60	60	60
混匀，常温反应 20min			
氯仿（μL）	100	100	100
混匀，8000rpm，常温离心 5min，空白管调零，取上清液 200μL 于 530nm 处酶标仪读取各管吸光度值，分别记为 A _{空白} 、A _{标准} 、A _{测定} 。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。			

五、超氧阴离子含量计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值 $\Delta A_{标准}$ 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（μmol/mL）。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ 带入公式计算出样本浓度（y，μmol/mL）；

2、按样本蛋白浓度计算

$$\text{超氧阴离子含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = y \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times \text{Cpr}) = y \div \text{Cpr}$$

3、按样本鲜重计算

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

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.04mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；Cpr：

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