



超氧化物歧化酶

1. 定义

25℃时抑制邻苯三酚自氧化速率50%时所需的SOD 量为一个活力单位。

2. 原理

在碱性条件下, 邻苯三酚会发生自氧化, 可根据SOD 抑制邻苯三酚自氧化能力测定SOD 活力。

3. 试剂

3.1 A 液: pH8.200.1 mol/L.三羟甲基氨基甲烷(Tris)- 盐酸缓冲溶液(内含1 mmol/LEDTA·2Na)。称取1.2114 g Tris和37.2 mg EDTA·2Na 溶于62.4 mL0.1 mol/L 盐酸溶液中, 用蒸馏水定容至 100mL。

3.2 B液: 4.5 mmol/L 邻苯三酚盐酸溶液。称取邻苯三酚(A.R)56.7mg 溶于少量10mmol/L, 盐酸 溶液, 并定容至100mL。

3.3 10 mmol/L.盐酸溶液。

3.4 0.200 mg/mL 超氧化歧化酶(SOD)。

3.5 蒸馏水: 二重石英蒸馏水。

4 仪器

4.1 紫外-可见分光光度计。

4.2 精密酸度计, 精确度0.01pH。

4.3 离心机。

4.4 10mL 比色管。

4.5 10mL 离心管。

4.6 玻璃乳钵。

5 试样的制备



5.1 固体样品(茶、花粉等)称取1.00g 样品置于玻璃乳钵中, 加入9.0mL 蒸馏水研磨5min,移入 10mL 离心管。用少量蒸馏水冲洗乳钵, 洗涤并入离心管中, 加蒸馏水至刻度, 经4000 r/min 离心 15 min,取上清液测定。

5.2 澄清液体样品可取原液直接测定, 浑浊液体样品经4000r/min 离心15 min, 再取上清液测定

6 分析步骤

6.1 邻苯三酚自氧化速率测定 在25℃左右, 于10mL 比色管中依次加入A 液 2.35 mL, 蒸馏水 2.00 mL,B 液0.15 mL。加入B 液立即混合并倾入比色皿, 分别测定在325 nm 波长条件下初始时和 1min 后吸光值, 二者之差即邻苯三酚自氧化速率 $\Delta A_{325}(\text{min}^{-1})$ 。 本试验确定 $\Delta A_{325}(\text{min}^{-1})$ 为0.060。

6.2 样液和SOD 酶液抑制邻苯三酚自氧化速率测定按7.1步骤分别加入一定量样液或酶液使抑制邻 苯三酚自氧化速率约为1/2 $\Delta A_{325}(\text{min}^{-1})$, 即 $\Delta A'_{325}(\text{min}^{-1})$ 为0.030。

表1 SOD活性测定加样表

试 液	空 白	样 液	SOD液
A 液/mL.	2. 35	2. 35	2. 35
蒸馏水/mL	2. 00	1. 80	1. 80
样液或SOD液/ μL		20. 0	20. 0
B液/mL	0. 15	0. 15	0. 15

7 结果

7.1 结果计算

7.1.1 液体样品按式(1)计算:

$$\text{SOD 活力(U/ml)} = \frac{\frac{\Delta A_{325} - \Delta A'_{325}}{\Delta A_{325}} \times 100\%}{50\%} \times 4.5 \times \frac{1}{V} \times D \dots\dots\dots (1)$$

式中:

U/mL——SOD 酶活力单位;



ΔA_{325} ——邻苯三酚自氧化速率;

$\Delta A'_{325}$ ——样液或SOD 酶液抑制邻苯三酚自氧化速率;

V——所加酶液或样液体积, 单位为毫升(mL);

D——酶液或样液的稀释倍数;

4.5——反应液总体积, 单位为毫升(mL)。

计算结果保留三位有效数字

7.1.2 固体样品按式(2)计算:

$$\text{SOD 活力(U/g)} = \frac{\frac{\Delta A_{325} - \Delta A'_{325}}{\Delta A_{325}} \times 100\%}{50\%} \times 4.5 \times \frac{D}{V} \times \frac{V_1}{m} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

V——加入酶液或样液体积, 单位为毫升(mL);

ΔA_{325} ——邻苯三酚自氧化速率;

$\Delta A'_{325}$ ——样液或SOD 酶液抑制邻苯三酚自氧化速率;

D——酶液或样液的稀释倍数;

V_1 ——样液总体积, 单位为毫升(ml);

m——样品质量, 单位为克(g);

4.5——反应液总体积, 单位为毫升(mL)。

计算结果保留三位有效数字。

7.2 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。