

植物过氧化氢 (H_2O_2) 活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHA1-M48	过氧化氢 (H_2O_2) 含量测定试剂盒	48T	微量法
PYHA1-M96		96T	

一、测定意义：

过氧化氢是植物体内重要的活性氧分子，其浓度动态平衡直接反映植物的氧化还原状态，可评估植物在生物或非生物胁迫下的氧化应激水平，揭示其抗逆机制提供关键依据。

二、测定原理：

过氧化氢与钼酸铵作用下生成稳定的络合物，在 405nm 处测定其生成量可计算出过氧化氢的量。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装置（48T）	试剂装置（96T）	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20mL×1 瓶	液体 40mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1mL ×1 支	液体 1mL ×1 支	2-8℃保存

50μmol/mL H_2O_2 标准应用液的配制：临用时按 H_2O_2 标准贮备液：双蒸水=1:19 的比例稀释，现用现配。

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 405nm。

2、测定前将试剂恢复至常温。

3、操作表

试剂名称	空白孔	标准孔	测定孔	对照孔
双蒸水 (μL)	10	-	-	-
标准品应用液 (μL)	-	10	-	-
样本 (μL)	-	-	10	10
试剂一 (μL)	1000	1000	1000	2000
试剂二 (μL)	1000	1000	1000	-

充分混匀，静置 5min，于 405nm 处，酶标仪测定各管吸光值，记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管、标准管只需做 1-2 次。

五、过氧化氢含量计算：

1、按样本蛋白浓度计算

$$H_2O_2 \text{ } (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \Delta A / \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} / C_{\text{pr}} = 50 \times \Delta A / \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}}$$

2、按样本鲜重计算

$$H_2O_2 \text{ } (\mu\text{mol}/\text{g}) = \Delta A / \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} / (W / V_{\text{样总}}) = 50 \times \Delta A / \Delta A_{\text{标准}} \times W$$

$C_{\text{标准}}$: 标准品浓度, 50μmol/mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL;

C_{pr} : 蛋白浓度, mg/mL; W : 样本重量, 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；

2、若样本颜色不明显，对照管可以不做，用空白管代替。

3、若测定孔 OD 值减去对照孔 OD 值高于 0.3 时，可将样本用提取液进行稀释，计算时乘以相应的稀释倍数即可；若测定孔 OD 值减去对照孔 OD 值低于 0.01 时，可以增加样本取样量或者取样浓度。

4、试剂二可能会存在晶体析出。操作时吸取上清液即可。

【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