

过氧化值含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-YH016 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

过氧化值是衡量油脂和脂肪酸等被氧化程度的重要指标, 通常以 1 千克样品中活性氧的毫摩尔数表示。它用于判断食品是否因氧化而变质, 是评估食品卫生质量的关键参数, 过氧化值越高, 说明油脂的酸败程度越严重, 食品的质量和安全性也越低。

样本中的过氧化物将二价铁离子氧化成三价铁离子, 三价铁离子与硫氰酸盐反应生成橙红色硫氰酸铁配合物, 通过检测该物质在 500nm 处的吸光值, 即可得出过氧化值含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	自备	室温	1. 纯甲醇, 2. 分析纯及以上, $\geq 98\%$ 。
试剂一	液体 0.5mL×1 支	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×1 支	4℃避光保存	每支: 1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入 30uL 试剂一和 1.47mL 纯水溶解待用; 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂三	粉体 1 支	4℃避光保存	每支: 1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入 1.2mL 纯水溶解待用; 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准管	液体 2mL×1 支	4℃避光保存	

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、96 孔板、离心管、酶标仪、纯甲醇、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

① 动、植物组织样本:

取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

② 液体样本:

直接测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

③ 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆

(可使用各类常见电动匀浆器)；或使用超声破碎仪，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）12000rpm 4℃ 离心 10min，取上清待测。

2、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min（等待仪器过自检程序亦可），设定波长到 500nm。

② 所有试剂恢复至室温，按下表在 EP 管中依次加入：

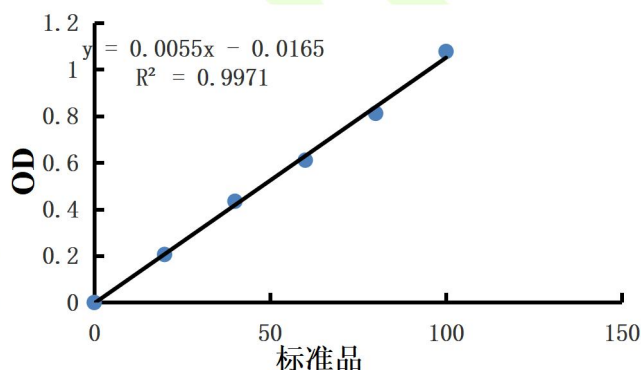
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	50	
纯甲醇	900	950
试剂二	10	10
试剂三	10	10
混匀，室温静置 5min，取 200μL 转移到 96 孔板中，500nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【注】：1. 若 A 测定管值超过 1.8，可把样本进行稀释后测定，稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 ΔA 小于 0.01，则可增加样本质量 W，改变后的 W 需带入公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0055x - 0.0165$ ，x 为标准品浓度 (μg/mL)，y 是 ΔA 。



2、按照质量计算：

$$\begin{aligned} \text{过氧化值含量}(\mu\text{g/g}) &= [(\Delta A + 0.0165) \div 0.0055 \times V_1] \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 181.82 \times (\Delta A + 0.0165) \div W \times D \end{aligned}$$

2、按蛋白含量计算：

$$\begin{aligned} \text{过氧化值含量}(\mu\text{g/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0165) \div 0.0055 \times V_1] \div (C_{\text{pr}} \times V_1 \div V) \times D \\ &= 181.82 \times (\Delta A + 0.0165) \div C_{\text{pr}} \times D \end{aligned}$$

3、按照液体体积计算：

$$\text{过氧化值含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0165) \div 0.0055] \times D = 181.82 \times (\Delta A + 0.0165) \times D$$

4、按细菌/细胞密度计算：

$$\begin{aligned} \text{过氧化值含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0165) \div 0.0055 \times V_1] \div (V_1 \div V \times 500) \times D \\ &= 181.82 \times (\Delta A + 0.0165) \div 500 \times D \end{aligned}$$

W---取样质量，g；

V---提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.05mL；

500---细菌或细胞总数，万；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

Cpr---上清液蛋白浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒

附：标准曲线制作过程：

- 1 标曲为非必做实验，用户可根据实验需求制作标曲，亦可直接采用说明书计算公式进行结果计算。
- 2 标准品母液浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 。将母液用纯甲醇稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0，20，40，60，80，100. $\mu\text{g/mL}$ 。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 3 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 100 μL ，加入 900 μL 纯甲醇，混匀得到 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标品稀释液待用。						
标品浓度 $\mu\text{g/mL}$	0	20	40	60	80	100
标品稀释液 μL	0	40	80	120	160	200
纯甲醇 μL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

- 4 依据测定管的加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
标品	50	
纯甲醇	910	950
试剂二		10
试剂三	10	10
混匀，室温静置 5min，取 200 μL 转移到 96 孔板中，500nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{标品}} - A_{\text{空白}}$ 。		