

ICS 65.140
B 47



中华人民共和国国家标准

GB/T 23195—2008

蜂花粉中过氧化氢酶的测定方法 紫外分光光度法

Method for the determination of catalase in bee pollen—
Ultraviolet spectrophotometry

2008-12-31 发布

2009-06-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准由中华全国供销合作总社提出并归口。
本标准起草单位：广州市宝生园有限公司、华南农业大学。
本标准主要起草人：郑尧隆、刘伟、陈伟彬。

 **美析仪器**
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

蜂花粉中过氧化氢酶的测定方法 紫外分光光度法

1 范围

本标准规定了蜂花粉中过氧化氢酶的测定方法。

本标准适用于蜂花粉中过氧化氢酶的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

3 原理

过氧化氢在 240 nm 波长下有强烈吸收,过氧化氢酶能分解过氧化氢,使反应溶液吸光度在一定范围内随反应时间而降低,根据测量吸光度的变化速度即可测定过氧化氢酶的活性。

4 试剂

除非另有说明,在分析中仅使用分析纯试剂和符合 GB/T 6682 要求的蒸馏水或去离子水。

4.1 磷酸缓冲液:pH 为 6.8~7.0,浓度为 50 mmol/L,含有 1 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)。

准确称取 17.91 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 加蒸馏水溶解并稀释至 500 mL,作为 A 液;

准确称取 7.80 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 加蒸馏水溶解并稀释至 500 mL,作为 B 液;

准确量取 55.0 mL A 液与 45.0 mL B 液于 200 mL 烧杯中,加入 0.07 g EDTA,加蒸馏水稀释混匀(加至 150 mL 左右),用酸度计标定至 6.8~7.0,转入 200 mL 容量瓶中,定容至刻度,混匀。

4.2 过氧化氢溶液:体积分数为 0.1%。

准确吸取 0.5 mL 30% 过氧化氢置于 50 mL 棕色容量瓶中,用磷酸缓冲液(4.1)定容至刻度,混匀,从中准确量取 10.0 mL 于 100 mL 三角锥形瓶(避光)中,再准确量取 20.0 mL 的磷酸缓冲液(4.1)加入混匀即得。

4.3 液氮。

5 仪器设备

5.1 紫外分光光度计。

5.2 冷冻离心机。

5.3 恒温水浴锅。

5.4 酸度计。

5.5 分析天平:感量 0.1 mg。

5.6 移液枪:100 μL 、5 000 μL 。

6 待测液的制备

称取 1 g 样品,精确到 1 mg,置于已用适量液氮预冷的瓷研钵中,边加液氮边研磨,待样品充分研

磨后,静置至研钵解冻升温后加入约 10 mL 新鲜配制的磷酸缓冲液(4.1)溶解,转入 25 mL 容量瓶中,并用磷酸缓冲液冲洗研钵数次,合并洗液并定容至刻度。混合均匀后将容量瓶置 4 ℃ 冰箱中静置 30 min,取上清液在低温离心机 4 ℃、12 000 r/min 的条件下离心 15 min,取澄清液即得待测液。

7 分析步骤

- 7.1 紫外分光光度计参数为:方式:时间扫描;波长:240 nm;测定时间:120 s;读数间隔:5 s。
- 7.2 将样液及过氧化氢溶液(4.2)分别置于 40 ℃ 恒温水浴锅中 10 min,准确吸取样液 0.1 mL 于石英皿中,将石英皿放回槽中(未放石英皿前仪器已消零),再准确吸取 2.9 mL 过氧化氢溶液(4.2)加入石英皿中,混合均匀,立即开始读数。
- 7.3 从 0 s~90 s 中截取线性较好的 1 min,计算其吸光度差值。

8 计算与表述

以 1 min 内过氧化氢在 240 nm 波长下吸光度减少 0.01 的酶量为 1 个酶活单位(U)。过氧化氢酶活性(U/g)按式(1)计算。

$$\text{过氧化氢酶活性} = \frac{\Delta A \times V_1}{0.01 \times t \times V_2 \times m} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

ΔA ——结果中选取的 1 min 吸光度差值;

V_1 ——样液总体积,单位为毫升(mL);

0.01——240 nm 波长下吸光度每下降 0.01 为 1 个酶活单位(U);

t ——1 min;

V_2 ——测定用样液体积,单位为毫升(mL);

m ——样品质量,单位为克(g)。

计算结果表示到整数位,报告结果为平行测定结果的算术平均值。

9 允许差

同一实验室平行测定或重复测定结果相对标准偏差 $\leq 10\%$ 。