

过氧化氢 (H₂O₂) 含量检测试剂盒 (硫酸钛微板法)

产品货号: BA1601

产品规格: 100T

产品简介:

过氧化氢(H₂O₂)是生物体内最常见的活性氧分子,主要由SOD和XOD等催化产生,由CAT和POD等催化降解。H₂O₂不仅是重要的活性氧之一,也是活性氧相互转化的枢纽。生命体内积累的H₂O₂是由一些氧化物催化超氧阴离子发生氧化还原反应而形成, H₂O₂相对超氧阴离子性质稳定,但其存在可以直接或间接导致细胞膜脂质过氧化损害,加速细胞的衰老和解体, H₂O₂也是许多氧化应急反应中的关键调节因子。

过氧化氢(H₂O₂)检测试剂盒(硫酸钛微板法)其检测原理是H₂O₂与硫酸钛反应生成的过氧化物-钛复合物黄色沉淀,溶解于强酸中,其黄色深浅与过氧化氢浓度在一定范围内呈线性关系,通过酶标仪比色法测定412nm处吸光度。该试剂盒主要用于检测植物组织、血清、血浆等样品中过氧化氢(H₂O₂)含量。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

试剂名称	100T	保存温度
试剂(A): H ₂ O ₂ 基液	1ml	2-8℃
试剂(B): 碱性基液	10.5ml	室温
试剂(C): 硫酸钛	0.3g	室温
试剂(D): 酸性基液	100ml	室温

自备材料:

1. 蒸馏水、丙酮
2. 匀浆器或研钵
3. 低温离心机
4. 酶标仪、96孔板

操作步骤 (仅供参考):

1. 准备样品:
 - ①植物样品:取正常或逆境下的新鲜植物组织,清洗干净,擦干,切碎,迅速称取5g,加入5ml预冷的丙酮,在冰浴条件下迅速匀浆或研磨,4℃ 12000g离心20min,收集上清液,测量提取液总体积,4℃保存备用。
 - ②血浆、血清和尿液样品:血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定,4℃保存,用于过氧化氢的测定。
 - ③高活性样品:如果样品中含有较高浓度的过氧化氢,可以使用丙酮进行恰当的稀释。
2. 配制10mM H₂O₂标准溶液:由于过氧化氢不是非常稳定,使用前需自行测定过氧化氢的实际浓度。本试剂盒提供的H₂O₂基液的H₂O₂浓度约为1M,用蒸馏水稀释100倍,使H₂O₂浓度约为10mM。蒸馏水调零,分光光度计测定A₂₄₀,根据公式H₂O₂浓度(mM)=22.94×A₂₄₀计算出H₂O₂基液中H₂O₂的实际浓度,再用丙酮稀释H₂O₂基液配制10mM H₂O₂-丙酮标准溶液。(一般情况下,新配制的10mM H₂O₂基液A₂₄₀为0.4~0.45,3个月以后A₂₄₀为0.35~0.42)



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

按下表依次稀释(常用浓度0.3-3mM,即1~5号):

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6	7
丙酮-H ₂ O ₂ 标准(10mM)	0.03	0.05	0.08	0.1	0.3	0.5	0.8
预冷丙酮	0.97	0.95	0.92	0.9	0.7	0.5	0.2
H ₂ O ₂ 浓度(mM)	0.3	0.5	0.8	1	3	5	8

3. 配制硫酸钛溶液: 0.3g硫酸钛加入6ml蒸馏水中, 即为5%硫酸钛溶液, 4℃保存。
4. H₂O₂加样: 按照下表设置空白管、标准管、测定管, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的H₂O₂浓度过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
预冷丙酮	0.5	-	-
系列丙酮-H ₂ O ₂ 溶液(1~5号)	-	0.5	-
待测样品	-	-	0.5
碱性基液(直接加入到溶液)	0.1	0.1	0.1
硫酸钛溶液(直接加入到溶液)	0.05	0.05	0.05
加入碱性基液、硫酸钛溶液时, 应直接加至溶液中, 不要粘到管壁。			

5. H₂O₂测定: 混匀, 室温放置5min, 12000g离心15min, 弃上清液, 留取沉淀, 如有必要可加入预冷丙酮反复洗涤沉淀物, 向各管的沉淀中加入1ml酸性基液, 摇动, 使沉淀完全溶解。取各管溶液300μl加入96孔板, 空白调零, 酶标仪测定412nm处各标准孔、测定孔的吸光度。

计算: 以系列丙酮-H₂O₂标准(0.3、0.5、0.8、1、3、5、8mM)为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程。以测定管吸光度代入回归方程求得待测样品中H₂O₂的浓度。

$$\text{组织样品H}_2\text{O}_2(\text{mmol/g}) = (C_0 \times V_T \times N) / m$$

$$\text{液体样品H}_2\text{O}_2(\text{mmol/L}) = C_0 \times N$$

式中: C_0 = 根据待测样品的吸光度在标准曲线求得H₂O₂浓度(mM)

V_T = 待测样品的总体积(L)

m = 样品质量(g)

N = 样本稀释倍数

注意事项:

1. 本试剂盒亦可用分光光度计进行检测, 但检测的样本数相应减少。
2. 加入碱性基液、硫酸钛溶液时, 应直接加入至溶液中, 不要粘到管壁。
3. 过氧化物-钛复合物黄色沉淀溶解于酸性基液时需要一段时间, 需完全溶解, 否则有可能影响测定结果。
4. H₂O₂基液和碱性基液应严格密闭保存, 避免挥发, 否则效率会下降。
5. H₂O₂基液和酸性基液有一定腐蚀性, 请小心操作。
6. 硫酸钛溶解于水后应尽早使用, 如暂时不用, 可短期放置4℃冰箱保存。亦可用分析天平称取一定量的粉剂, 配置5%的浓度即可。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 12个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com