

过氧化氢 (H₂O₂) 含量检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1103

产品规格: 50管/48样

产品简介:

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。一方面, H₂O₂可以直接或间接地氧化细胞内核酸, 蛋白质等生物大分子, 并使细胞膜遭受损害, 从而加速细胞的衰老和解体; 另一方面H₂O₂也是许多氧化应激反应中的关键调节因子。H₂O₂与硫酸钛生成黄色的过氧化钛复合物, 在415nm有特征吸收。

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体100mL×1瓶(自备)	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体12mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体60mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂一: 丙酮自备。
2. 试剂二: 临用前加入6mL浓盐酸充分溶解备用, 用不完的试剂4℃保存。
3. 标准品: 1mmol/mL H₂O₂标准液。

技术指标:

最低检出限: 0.002μmol/mL

线性范围: 0.0097-1.5μmol/mL

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、丙酮、浓盐酸、研钵/匀浆器和冰。

操作步骤:

一、样本处理(可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

细菌或细胞样本的制备: 收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照每500万细菌或细胞加入1mL试剂一, 超声波破碎细菌或细胞(功率20%, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

组织样本的制备: 称取约0.1g组织, 加入1mL试剂一进行冰浴匀浆; 8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

血清(浆)样本: 按照每100μL血清(浆)加入0.9mL试剂一的比例充分混匀; 8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

二、测定操作

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至415nm，蒸馏水调零。
2. 将试剂二、三和四37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴10min以上。
3. 如果用96孔板则将用丙酮将1mmol/mL标准液稀释为2μmol/mL的标准溶液，用微量玻璃比色皿则用丙酮将1mmol/mL标准液稀释为1μmol/mL的标准溶液。
4. 在EP管中按顺序加入下列试剂：

试剂名称（μL）	测定管	标准管	空白管
样本	吸取的量为全部上清液	-	-
1μmol/mL标准溶液	-	1000	-
试剂一	-	-	1000
试剂二	100	100	100
试剂三	200	200	200
4000g，常温离心10min，弃上清，留沉淀（可先用丙酮清洗3-5次来洗去植物色素）			
试剂四	1000	1000	1000

加入试剂四溶解沉淀后，室温静置5min，倒入比色皿中，415nm处，蒸馏水调零，记录测定管吸光度。计算
 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。（空白管只需做1-2次即可）。

三、H₂O₂含量计算

1. 按照细菌、细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{含量} (\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标液}}) \times V_{\text{样本}} \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ &= 0.002 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \end{aligned}$$

2. 按组织质量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{含量} (\mu\text{mol}/\text{g质量}) &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标液}}) \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}} \times W) \\ &= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \end{aligned}$$

3. 按照蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标液}}) \times V_{\text{样本}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \\ &= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

4. 按血清（浆）体积计算：

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标液}}) \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{血清（浆）}} = 10 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

500：细胞或细菌总数，万个；C标液：H₂O₂标准溶液浓度，1μmol/mL；V样本：加入的样本体积，1mL；

W：组织质量，g；V提取：提取过程中所用体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；V血清（浆）：所用血清（浆）体积，0.1mL。

注意事项：

1. 由于试剂一易挥发，试剂一必须先预冷再加，研磨时必须在冰上研磨。
2. 本试剂盒中试剂的挥发性较高，请带一次性手套和口罩。
3. 如果样本吸光值大于0.9，建议将样本用试剂一稀释后进行测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com