

## 过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)检测试剂盒(硫酸钛微板法)

### 产品简介

过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)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, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 也是许多氧化应急反应中的关键调节因子。

过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)检测试剂盒(硫酸钛微板法)其检测原理是H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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, 主要用于检测植物组织、血清、血浆等样品中过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量。该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称 \ 编号	ADS014T00	Storage
	100T	
试剂(A): H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 基液	1ml	4°C 避光
试剂(B): 碱性基液	10.5ml	RT
试剂(C): 硫酸钛	0.3g	RT
试剂(D): 酸性基液	100ml	RT
使用说明书	1 份	

### 自备材料

- 1、蒸馏水、丙酮
- 2、匀浆器或研钵、低温离心机、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°C 12000g 离心 20min, 收集上清液, 测量提取液总体积, 4°C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该试剂盒的测

定, 4°C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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 基液的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度约为 1M, 用蒸馏水稀释 100 倍, 使 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度约为 10mM, 蒸馏水调零, 分光光度计测定 A<sub>240</sub>, 根据公式 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度 (mM)=22.94×A<sub>240</sub> 计算出 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 基液中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的实际浓度, 再用丙酮稀释 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 基液配制 10mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-丙酮标准溶液(一般情况下新配制的10mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>基液 A<sub>240</sub> 为 0.4~0.45, 3 个月以后 A<sub>240</sub> 为 0.35~0.42)。

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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 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°C保存。
- 4、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 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、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 标准(0.3、0.5、0.8、1、3、5、8 mM)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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的浓度。

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

液体样品  $H_2O_2$  (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  $H_2O_2$  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

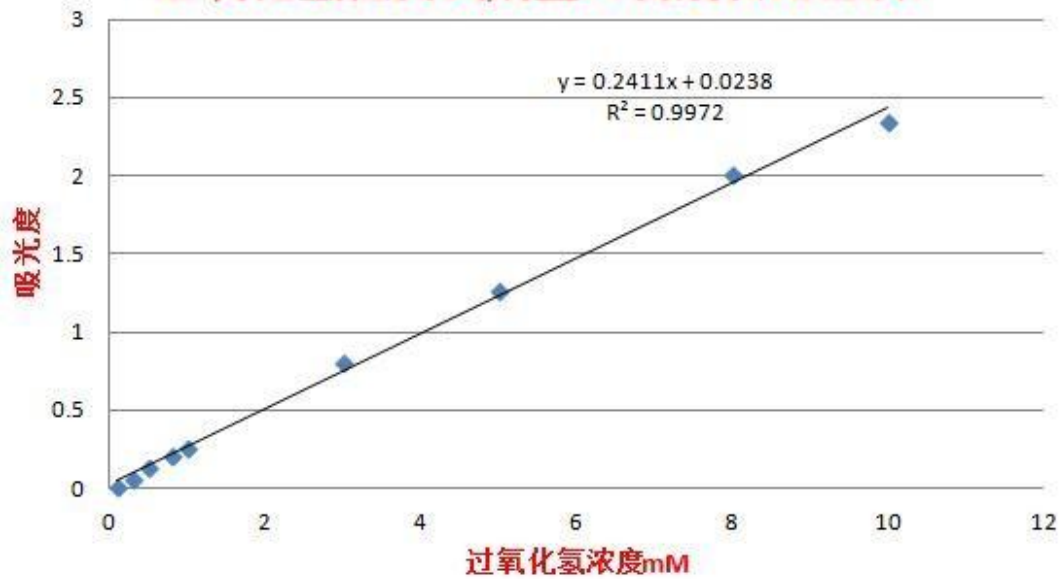
- 1、该试剂盒亦可用分光光度计进行检测，但检测的样本数相应减少。
- 2、加入碱性基液、硫酸钛溶液时，应直接加入至溶液中，不要粘到管壁。
- 3、过氧化物-钛复合物黄色沉淀溶解于酸性基液时需要一段时间，需完全溶解，否则有可能影响测定结果。
- 4、 $H_2O_2$  基液和碱性基液应严格密闭保存，避免挥发，否则效率会下降。
- 5、 $H_2O_2$  基液和酸性基液有一定腐蚀性，请小心操作。
- 6、硫酸钛溶解于水后应尽早使用，如暂时不用，可短期放置  $4^\circ C$  冰箱保存；亦可用分析天平称取一定量的粉剂，配置 5% 的浓度即可。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**12个月。低温运输，按要求保存。

**附录：**标准曲线制作：在室温条件下按说明书操作，对系列标准进行吸光度的测定，其吸光度及标准曲线如下(仅供参考)，我们采用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 标准(0.1、0.3、0.5、0.8、1、3、5、8、10mM)绘制标准曲线(标准品浓度过高或过低都有可能影响标准曲线的准确性)：

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 标准(mM)	0.1	0.3	0.5	0.8	1
吸光度	0.009	0.065	0.141	0.216	0.264
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 标准(mM)	3	5	8	10	
吸光度	0.812	1.262	2.010	2.355	

### 过氧化氢检测试剂盒（硫酸钛比色法）



注意：H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度低于 0.3mM 基本无色，0.3~1mM 为黄色，3~10mM 为橙黄色，效果参考如下。

