

过氧化氢(H₂O₂)检测试剂盒(硫酸钛微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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,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,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	规格	保存条件
过氧化氢(H ₂ O ₂)检测试剂盒	100T	4℃
试剂(A):H ₂ O ₂ 基液	1ml	4℃
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	
有效期	1 年	

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该试剂盒的测定，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 10mMH₂O₂ 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 10mMH₂O₂-丙酮标准溶液(一般情况下新配制的 10mMH₂O₂ 基液 A₂₄₀ 为 0.4~0.45，3 个月以后 A₂₄₀ 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 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 300 μl 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。

组织样品 $H_2O_2(\text{mmol/g}) = (C_0 \times V_T \times N) / m$

液体样品 $H_2O_2(\text{mmol/L}) = C_0 \times N$

式中： C_0 =根据待测样品的吸光度在标准曲线求得 H_2O_2 浓度(mM)

V_T =待测样品的总体积(L)

m =样品质量(g)

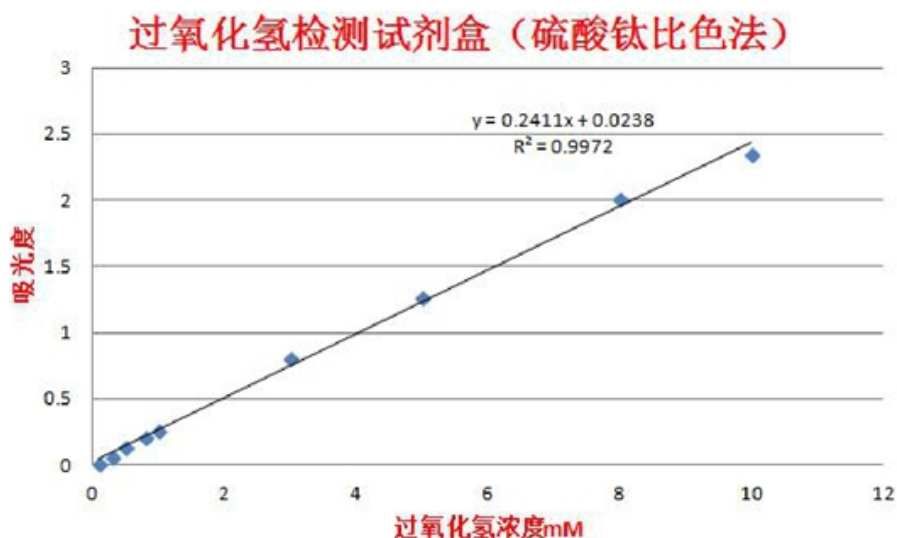
N =样本稀释倍数

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℃ 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。

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_2O_2 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 ₂ O ₂ 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 ₂ O ₂ 标准(mM)	3	5	8	10	
吸光度	0.812	1.262	2.010	2.355	



注意： H₂O₂ 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。

