

## 过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)检测试剂盒(硫酸钛比色法)

### 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>也是许多氧化应激反应中的关键调节因子。

Leagene过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)检测试剂盒(硫酸钛比色法)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,可通过比色法检测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	TO1076	Storage
试剂(A): H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 基液		50T	
试剂(B): 碱性基液		1ml	4°C 避光
试剂(C): 硫酸钛		10.5ml	RT
试剂(D): 酸性基液		0.3g	RT
使用说明书		100ml	RT
			1份

### 自备材料:

- 1、蒸馏水、丙酮
- 2、匀浆器或研钵、低温离心机、分光光度计、比色杯

### 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,用于过氧化氢的检测。
- 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，该试剂盒提供的 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℃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检测，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	1	—	—
系列丙酮-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 标准(1~7 号)	—	1	—
待测样品	—	—	1
碱性基液(直接加入到溶液)	0.2	0.2	0.2
硫酸钛溶液(直接加入到溶液)	0.1	0.1	0.1
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 2ml 酸性基液，摇动，使沉淀完全溶解；比色杯光径 1cm，空白管调零，分光光度计测定 412nm 处各标准管、测定管的吸光度，如果没有分光光度计，亦可用酶标仪检测。

**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。

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

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

式中：C<sub>0</sub>=根据待测样品的吸光度在标准曲线求得 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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、该试剂盒亦可用酶标仪进行检测，但检测的样本数相应增加。
- 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。
- 8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

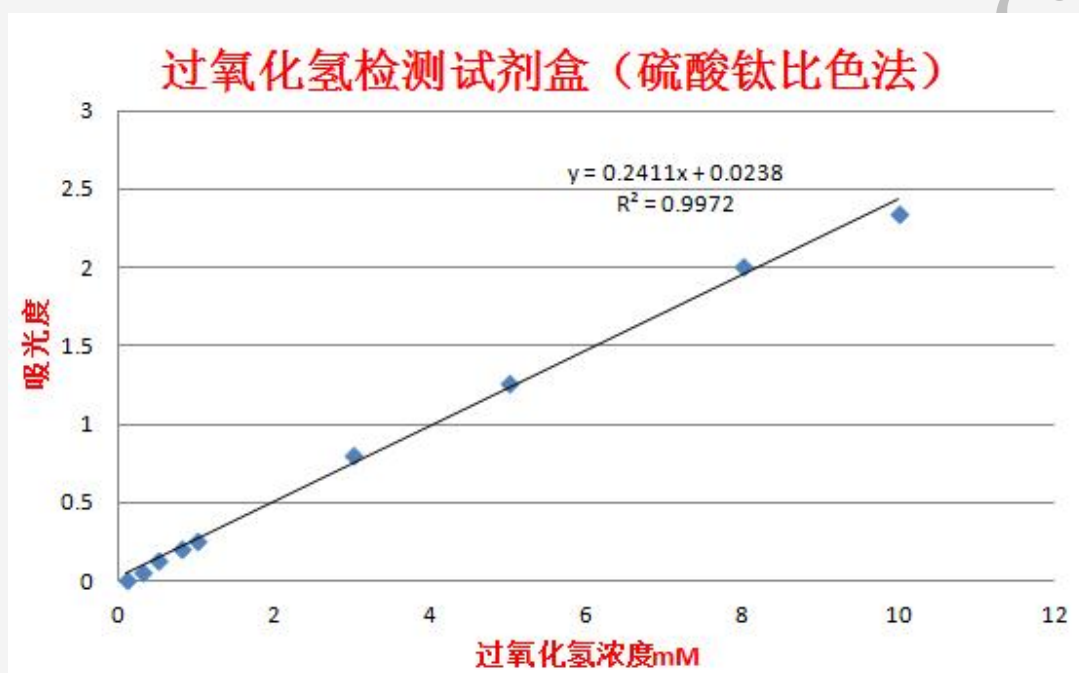
**有效期:** 12 个月有效。低温运输，按要求保存。

### 相关产品:

产品编号	产品名称
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
DF0111	组织固定液(10% NBF)
DM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
DZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
TC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)

**附录：**标准曲线制作：Leagene 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	



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。

