

过氧化氢(H₂O₂)检测试剂盒(硫酸钛微板法)

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。

源叶生物 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。

组成:

名称	编号	R30338 100T	Storage
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	

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°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 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)。

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°C 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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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(1~7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 μ l 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、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 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: C₀=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、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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

溶解, 否则有可能影响测定结果。

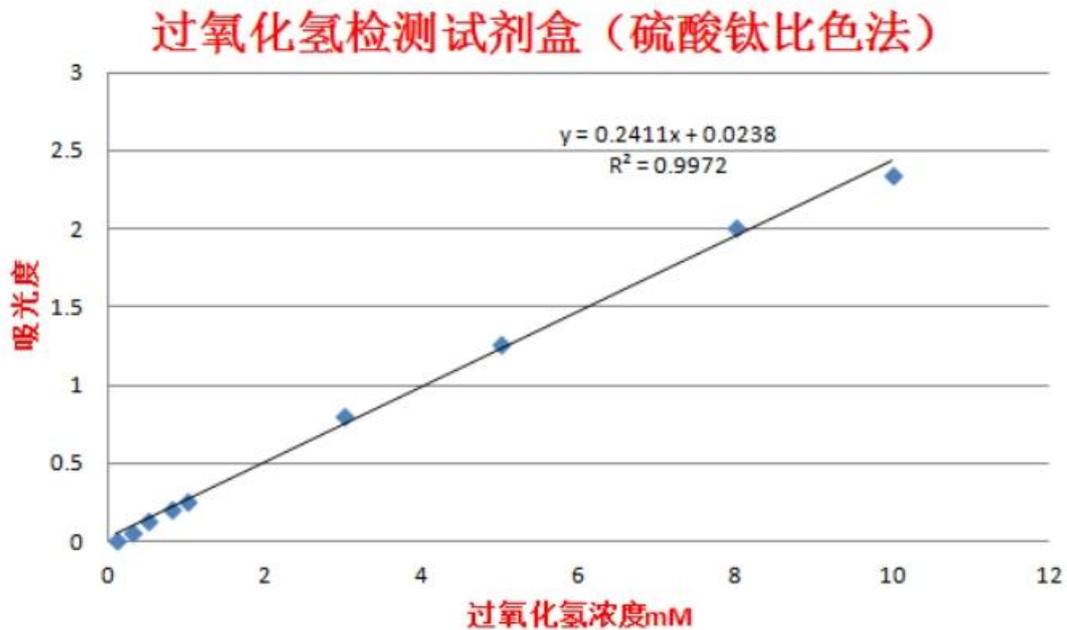
- 4、H₂O₂ 基液和碱性基液应严格密闭保存, 避免挥发, 否则效率会下降。
- 5、H₂O₂ 基液和酸性基液有一定腐蚀性, 请小心操作。
- 6、硫酸钛溶解于水后应尽早使用, 如暂时不用, 可短期放置 4°C 冰箱保存; 亦可用分析天平称取一定量的粉剂, 配置 5% 的浓度即可。
- 7、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 12 个月有效。



附录：标准曲线制作：源叶生物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 H₂O₂ 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	3	5	8	10
吸光度	0.009	0.065	0.141	0.216	0.264	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。

