过氧化氢(H_2O_2)检测试剂盒(硫酸钛比色法)

产品简介:

过氧化氢(H_2O_2)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_2O_2 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_2O_2 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_2O_2 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_2O_2 也是许多氧化应激反应中的关键调节因子。

过氧化氢(H_2O_2)检测试剂盒(硫酸钛比色法)其检测原理是 H_2O_2 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_2O_2)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:

编号 / 名称	GCTO1076 50T	Storage
试剂(A): H_2O_2 基液	1ml	4℃ 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、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℃ 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_2O_2 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_2O_2 基液的 H_2O_2 浓度约为 1M，用蒸馏水稀释 100 倍，使 H_2O_2 浓度约为 10mM，蒸馏水调零，分光光度计测定 A_{240}，根据公式 H_2O_2 浓度(mM)=22.94×A_{240} 计算出 H_2O_2 基液中 H_2O_2 的实际浓度，再用丙酮稀释 H_2O_2 基液配制 10mM H_2O_2-丙酮标准溶液(一般情况下新配制的 10mM H_2O_2 基液 A_{240} 为 0.4~0.45，3 个月以后 A_{240} 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_2O_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_2O_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、 H_2O_2 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_2O_2 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	1	—	—
系列丙酮-H_2O_2 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_2O_2 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_2O_2 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_2O_2 的浓度。

组织样品 H_2O_2 (mmol/g)=(C_0×V_T×N)/m

液体样品 H_2O_2 (mmol/L)=C_0×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。

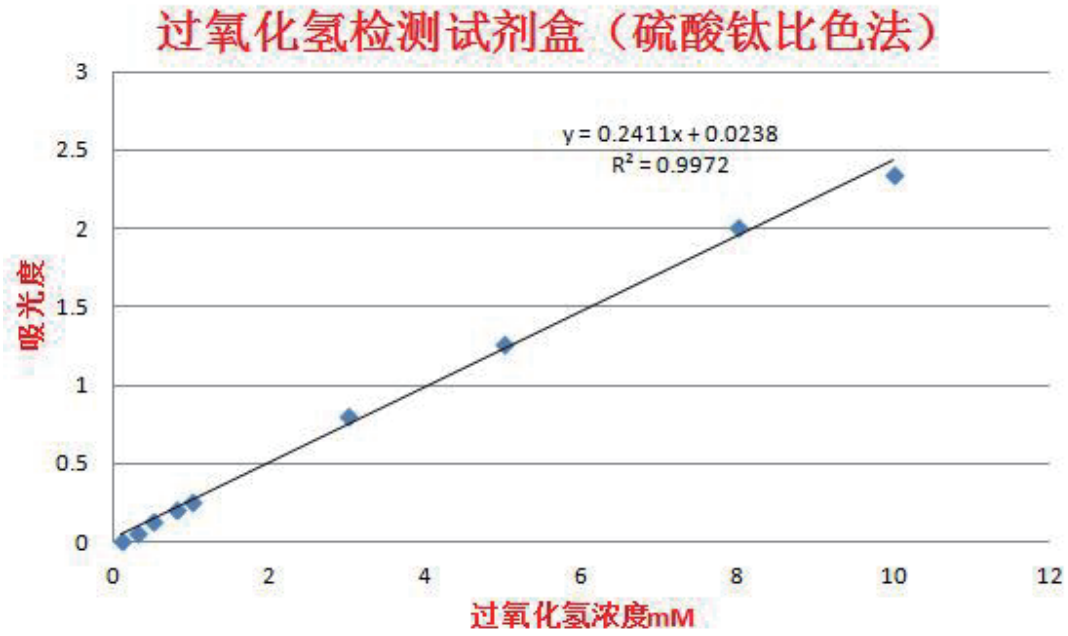
有效期: 12 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCCS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
GCDF0111	组织固定液(10% NBF)
GCDM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCTC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)

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_2O_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_2O_2 标准(mM)	3	5	8	10	
吸光度	0.812	1.262	2.010	2.355	



注意： H_2O_2 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。

