

## 过氧化氢（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1104

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

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。一方面，H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以直接或间接地氧化细胞内核酸，蛋白质等生物大分子，并使细胞膜遭受损害，从而加速细胞的衰老和解体；另一方面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。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>与硫酸钛生成黄色的过氧化钛复合物，在415nm有特征吸收。

**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体100mL×1瓶（自备）	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体30mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：丙酮自备。
2. 试剂二：临用前加入3mL浓盐酸充分溶解备用，用不完的试剂4℃保存。
3. 标准品：1mmol/mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>标准液。

### 技术指标：

最低检出限：0.0027μmol/mL

线性范围：0.0195-3μmol/mL

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、丙酮、浓盐酸、研钵/匀浆器和冰。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

细菌或细胞样本的制备：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL试剂一，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

组织样本的制备：称取约0.1g组织，加入1mL试剂一进行冰浴匀浆；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

血清（浆）样本：按照每100μL血清（浆）加入0.9mL试剂一的比例充分混匀；8000g 4℃离心10min，取上清，



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

置冰上待测。

## 二、测定操作

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至415nm，蒸馏水调零。
2. 将试剂二、三和四37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴10min以上。
3. 如果用96孔板将则用丙酮将1mmol/mL标准液稀释为2μmol/mL的标准溶液，用微量玻璃比色皿则用丙酮将1mmol/mL标准液稀释为1μmol/mL的标准溶液。
4. 在EP管中按顺序加入下列试剂：

试剂名称（μL）	测定管	标准管	空白管
样本	250	-	-
标准溶液	-	250	-
试剂一	-	-	250
试剂二	25	25	25
试剂三	50	50	50
4000g，常温离心10min，弃上清，留沉淀（可先用丙酮清洗3-5次来洗去植物色素）			
试剂四	250	250	250

加入试剂四溶解沉淀后，室温静置5min，取200 μL转移至微量玻璃比色皿或96孔板中测定415nm处吸光值（空白管只要做1-2次即可）。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{空白管}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。

## 三、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量计算

### A、按96孔板计算

1. 按照细菌、细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{含量} (\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) &= \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标液}) \times V_{样本} \div (500 \times V_{样本} \div V_{提取}) \\ &= 0.004 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \end{aligned}$$

2. 按组织质量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{含量} (\mu\text{mol}/\text{g质量}) &= \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标液}) \times V_{样本} \div (V_{样本} \div V_{提取} \times W) \\ &= 2 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \end{aligned}$$

3. 按照蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标液}) \times V_{样本} \div (C_{pr} \times V_{样本}) \\ &= 2 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr} \end{aligned}$$

4. 按血清（浆）体积计算：

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标液}) \times 10 = 20 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$$

500：细胞或细菌总数，万个；C标液：H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>标准溶液浓度，2 μmol/mL；V样本：加入的样本体积，0.25mL；

W：组织质量，g；V提取：提取过程中所用体积，1mL；C<sub>pr</sub>：样本蛋白浓度，mg/mL；10：血清稀释倍数，[0.1mL血清（浆）+0.9mL试剂一] ÷ 0.1mL血清（浆）=10。

### B、按微量玻璃比色皿计算

将公式中的C标液-2 μmol/mL改为C标液-1 μmol/mL进行计算即可。

### 注意事项：

1. 由于试剂一易挥发，试剂一必须先预冷再加，研磨时必须在冰上研磨。
2. 本试剂盒中试剂的挥发性较高，请带一次性手套和口罩。
3. 如果样本吸光值大于1.1，建议将样本用试剂一稀释后进行测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com