

## Hydrogen Peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Assay Kit

### 过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL857A	过氧化氢(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )试剂盒 分光法	48T

#### 产品简介:

过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)是生物体内常见的活性氧化代谢产物, 具有损伤生物大分子、产生细胞毒害的能力, 而且还可以作为信号分子。在生物和非生物胁迫应激、细胞程序性死亡以及生长发育调控过程中起重要作用, 是一种关键的调节因子。它可以激活 NF-kappaB 等因子, 哮喘、炎症性关节炎、动脉硬化以及神经退行等许多疾病都与过氧化氢相关的信号途径有关。

过氧化氢在与钛盐反应时, 生成过氧化物—钛复合物黄色沉淀, 可被浓硫酸溶解后, 在波长 415nm 波长下有最大吸收峰。其颜色深浅与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度成线性关系。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉末 ×1 支	4°C保存	临用前加入 4mL 水, 涡旋振荡充分溶解, 若有沉淀, 可静置 10min (或更长时间) 或转移至 2mL 离心管中 5000g 室温离心 5min, 取上清液用于检测。
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 35mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	液体 ×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

#### 使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

##### 一、样本准备:

###### 1. 组织样本准备:

- 称取约 0.1g 样本组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 预冷丙酮, 进行冰浴匀浆, 转移至离心管中, 用丙酮定容至 1mL;
- 10000-12000g, 4°C离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可以按照组织质量 (g): 丙酮为 1: 5~10 的比例提取

###### 2. 细菌/细胞样本准备:

- 收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清;
- 取 5×10<sup>6</sup> 个细菌或细胞加入 1mL 预冷丙酮, 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 强度 20%或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次);
- 10000-12000g, 4°C离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照每 0.5~1×10<sup>7</sup> 个细菌/细胞加入 1mL 丙酮进行提取

###### 3. 液体样本准备:

澄清的液体直接检测; 若浑浊则离心后取上清检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



## 二、样品测定:

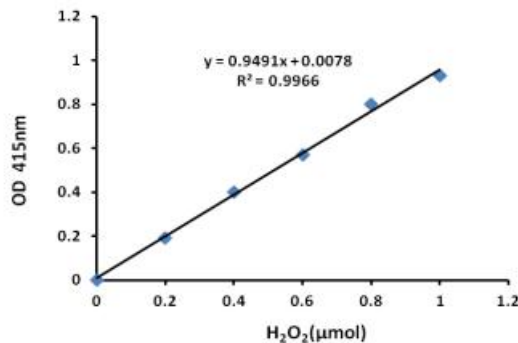
1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 415nm, 蒸馏水调零。
2. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管(做一次)
样本	500	-
丙酮	-	500
试剂一	50	50
试剂二	100	100
充分混匀, 10000-12000g, 25°C离心 10min, 弃上清, 留沉淀		
试剂三	700	700
加入试剂三溶解沉淀后混匀(若有沉淀产生, 10000-12000g 离心 2 分钟即可)。转移全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿中, 于 415nm 处读取吸光值 A。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$		

- 【注】: 1. 色素含量高的样本在加入试剂二并离心后, 若上清液出现悬浮黑色物质, 此时须将离心得到的沉淀, 再用 500μL 预冷丙酮混匀并离心(重复 2 次), 此时得到的沉淀再加入 700μL 试剂三测定。
2.  $\Delta A$  线性范围为 0.03-1.0, 若  $\Delta A$  超过 1.0 则需用丙酮稀释, 计算公式乘以相应稀释倍数 D。若  $\Delta A$  值较低可增加样本取样质量 W(如增加至 0.2g)或增加样本加样体积 V1(如由 500μL 增至 700μL, 其他试剂不变), 则改变后的 W 和 V1 代入公式重新计算。

## 三、含量计算

1. 标准曲线方程:  $y = 0.9491x + 0.0078$ : x 为标准品摩尔质量 (μmol), y 为  $\Delta A$ 。



2. 按样本质量计算:

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.0078) \div 0.9491] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 2.1 \times (\Delta A - 0.0078) \div W \times D \end{aligned}$$

3. 按细菌/细胞密度计算:

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\text{nmoL}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A - 0.0078) \div 0.9491] \div (500 \times V1 \div V) \times 10^3 \times D \\ &= 4.2 \times (\Delta A - 0.0078) \times D \end{aligned}$$

4. 按液体体积计算:

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol/mL}) &= [(\Delta A - 0.0078) \div 0.9491] \div V1 \times D \\ &= 2.1 \times (\Delta A - 0.0078) \times D \end{aligned}$$

V---加入丙酮体积, 1mL

V1---加入反应体系中样本体积, 0.5mL

W---样本质量, g

D---稀释倍数

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（20  $\mu\text{mol/mL}$ ）：标准品溶解在 4.99mL 丙酮中，充分混匀。
- 2 把母液用丙酮稀释成以下浓度梯度的标准品：0，0.4，0.8，1.2，1.6，2  $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

#### 注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、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：

4°C保存六个月。

