

# Hydrogen Peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Content Assay Kit, Colorimetric method

## 过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 含量检测试剂盒, 比色法

### 产品简介

过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)是一种活性氧化代谢的副产物,在许多氧化应激反应中过氧化氢都是一种关键的调节因子。过氧化氢作为一种活性氧物质,能够触发包括NF- $\kappa$ B在内的多种信号转导途径的激活,这些信号通路与多种疾病的发生发展有着紧密的联系,如哮喘、炎症性关节炎、动脉硬化和神经退行性疾病等,过氧化氢也和细胞凋亡、细胞增殖等密切相关。

该试剂盒可以测定动物组织、血清、血浆、其它生物体液、细胞、植物组织等的过氧化氢浓度,其原理是过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)可以与钼酸作用生成一种络合物,405 nm处测根据其生成量可计算出H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的量。

### 产品信息

货号	60743ES50
规格	50T

### 组分信息

组分编号	组分名称	规格	储存条件
60743-A	试剂一	60 mL	2~8°C
60743-B	试剂二	60 mL	2~8°C, 如有结晶, 热水溶解后使用。
60743-C	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 标准品	5 mL	2~8°C

### 储存条件

2~8°C避光保存,有效期6个月。

### 使用说明

【注:正式测定前建议取2-3个预期差异较大的样本做预测定。若吸光度大于0.8需要稀释样本,若吸光度小于0.05需要增加取样量,对应标准管中的标准品与空白管中的双蒸水均要同样量增加,但是标准品要作相应稀释后再增加量】

#### 1 准备仪器

分光光度计或酶标仪(405 nm)、台式离心机、移液器、双蒸水、生理盐水(0.9%)或PBS(0.1M)、涡旋混匀器。

#### 2 试剂的前处理

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>标准品:双蒸水按1:9的比例配成163 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>标准品溶液,现用现配。

#### 3 样品的前处理

1) 血清/血浆等液体样本可直接测定,如超过线性范围可稀释后测定;细胞培养液则吸取部分,8000转/分,离心5分钟后取上清液检测。

#### 2) 动物组织样本的前处理

准确称取组织重量,按重量(g):体积(mL)=1:9的比例,加入9倍体积的生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆,12000转/分,离心10分钟,取上清液待测(上清液需要测定其蛋白浓度,推荐使用20200ES/20201ES)。

#### 3) 细胞样本的前处理

收集细胞后,每份细胞(细胞数量尽量不要低于10<sup>6</sup>个,越多越好)加入0.3 mL的生理盐水(或者PBS 41403ES),冰水浴下超声破碎(200-300 W,运行5秒,间隔15秒,反复3-5次),12000转/分,离心10分钟,取上清液待测(上清液需

要测定其蛋白浓度，推荐使用 20200ES/20201ES）。

#### 4) 植物/药材样本的前处理

水分含量较高的植物建议用方法二，水分含量低建议用方法一处理。

##### 方法一

将植物组织用 PBS 擦洗干净后用吸水纸吸干，剪碎放入研钵，加液氮研磨成粉，称取植物粉末，按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例加入 9 倍体积的 PBS (41403ES)，涡旋震荡或研磨仪研磨 1 分钟，12000 转/分，离心 10 分钟，取上清液待测。

##### 方法二

植物组织用 PBS 擦洗干净后用吸水纸吸干，不研磨成粉，按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例,加入 9 倍体积的 PBS (41403ES)，冰水浴条件下机械匀浆，12000 转/分，离心 10 分钟，取上清液待测。

#### 4 操作步骤

1) 调节波长：分光光度计/酶标仪/半自动生化分析仪（比色测定波长为 405 nm）。

2) 按操作表依次加入各试剂。

试剂	空白管 (mL)	标准管 (mL)	测定管 (mL)
试剂一	1.0	1.0	1.0
双蒸水	0.1		
163 mmol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 标准品		0.1	
样本			0.1
试剂二	1.0	1.0	1.0

混匀，于 405 nm 处，1 cm 光径，双蒸水调零，测各管吸光度值 A。

#### 5 计算公式

##### 1) 液体样本计算公式

$$H_2O_2(\text{mmol/L}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标准}} \times N$$

C 标准：标准液浓度 163 mmol/L；N：样本测试前稀释倍数。

##### 2) 动物组织/细胞样本计算公式

$$H_2O_2(\text{mmol/gprot}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

C<sub>pr</sub>：组织匀浆蛋白浓度，gprot/L（prot 指蛋白）

##### 3) 组织中样本计算公式

$$H_2O_2(\text{mmol/g 鲜重}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标准}} \div (W \div V_{\text{样总}})$$

W：组织样本质量，g；V<sub>样总</sub>：样本前处理（匀浆）时，加入的匀浆介质的体积，L。

#### 注意事项

1. 有些样本因其本身带有一定的颜色或者浊度，需在操作表的基础上加测一个样本的对照管（即 0.1 mL 样本+2 mL PBS，混合后 405 nm 处读数，计算时 A 测定先减去 A 对照，再代入计算）。
2. 细胞中过氧化氢较低，建议细胞数越多越好（最低不低于 10<sup>6</sup> 个）。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
4. 本产品仅作科研用途！