

Hydrogen peroxide (H₂O₂) content Kit过氧化氢含量 (H₂O₂) 试剂盒说明书

货号: G0112W | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

过氧化氢 (H₂O₂) 是重要的活性氧之一, 不仅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。它与钛盐反应生成过氧化物—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 H₂O₂ 浓度成线性关系。

二、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 23mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 μL×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、需自备的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、丙酮、研钵和冰。

四、过氧化氢 (H₂O₂) 的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 丙酮, 进行冰浴匀浆, 转移至 EP 管中, 用丙酮定容至 1mL, 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g):预冷丙酮(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 预冷丙酮, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 用丙酮定容至 1mL, 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10⁴):预冷丙酮(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测。

2、上机检测

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 415nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一次)
样本	250	
丙酮		250
试剂一	25	25
试剂二	50	50
充分混匀, 12000rpm, 25℃离心 10min, 弃上清, 留沉淀		
试剂三	230	230

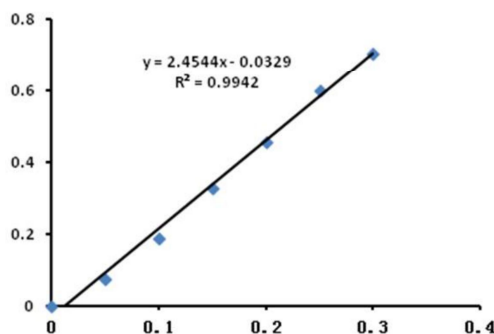
加入试剂三溶解沉淀后混匀，若有沉淀产生，12000rpm 离心 2 分钟即可。

取 200 μ L 上清液转移至 96 孔板中，
于 415nm 处读取吸光值 A。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 2.4544x - 0.0329$ ；x 为标准品摩尔质量， μmol ；y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按照样本质量计算：

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0329) \div 2.4544] \div (W \times V1 \div V) \times D = 1.63 \times (\Delta A + 0.0329) \div W \times D$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0329) \div 2.4544] \div (500 \times V1 \div V) \times 10^3 \times D \\ &= 3.26 \times (\Delta A + 0.0329) \times D \end{aligned}$$

4、按液体体积计算：

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol/mL}) = [(\Delta A + 0.0329) \div 2.4544] \div V1 \times D = 1.63 \times (\Delta A + 0.0329) \times D$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入反应体系中样本体积，0.25mL；

W---样本质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。