



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

过氧化氢(H₂O₂)含量检测试剂盒(分光光度法)

货号: R41949

规格: 50T/48S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
试剂-A(丙酮)	50mL×1瓶	自备, 2-8℃保存
试剂-B	粉剂×1瓶	2-8℃保存; 临用前加入6mL浓盐酸溶解备用; 用不完的试剂4℃保存(溶解时间较长, 约30min, 若有不溶物质, 离心取上清使用)
试剂-C	15mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-D	60mL×1瓶	2-8℃保存
标准品 (1mmol/mL)	1mL×1支	2-8℃保存

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义: 过氧化氢(H₂O₂)是生物体内最常见的活性氧分子, 主要由超氧化物歧化酶 (SOD) 和黄嘌呤氧化酶 (XOD) 等催化产生, 由过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 等催化降解。H₂O₂ 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, H₂O₂ 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 H₂O₂ 也是许多氧化应急反应中的关键调节因子。

原理: H₂O₂ 与硫酸钛生成黄色的过氧化钛复合物, 在 415nm 有特征吸收。

自备用品:

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、丙酮、浓盐酸、冰和蒸馏水。



H202 提取:

1. 细菌、细胞样品的制备:

收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 试剂-A 体积 (mL) 为 500:1 的比例 (按照 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂-A), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2. 组织样品的制备:

按照组织质量 (g): 试剂-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂-A), 进行冰浴匀浆, 8000g 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3. 血清 (浆) 样品: 按照每 0.1mL 血清 (浆) 加入 0.9mL 试剂-A 的比例充分混匀, 8000g 4°C 离心 10min, 取全部上清液 (注意吸取干净), 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 415nm, 蒸馏水调零。

2. 将 试剂-B、试剂-C 和 试剂-D 置 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 水浴 10min 以上。

3. 用丙酮将 1mmol/mL 标准液稀释为 1 μ mol/mL 的标准溶液。

4. 在 EP 管中按顺序加入下列试剂:

试剂名称	对照管(uL)	测定管(uL)	标准管
样本		吸取的量的为全部上清	
1 μ mol/mL 标准溶液			1000
试剂-A	1000		
试剂-B	100	100	100
试剂-C	200	200	200
4000g, 常温离心 10min, 弃上清, 留沉淀 (可用丙酮清洗 3-5 次先洗去植物色素)			
试剂-D	1000	1000	1000



溶解沉淀后, 室温静置5min, 倒入比色皿中, 测定415nm处吸光值A。计算
 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{对照管}$ 。

注: 对照管只要做 1-2 次即可

H2O2 含量计算公式:

1. 血清(浆)中 H2O2 含量计算:

$$\text{H2O2 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div V_{血清(浆)} \\ = 10 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$$

2. 细菌、细胞或动物组织中 H2O2 含量计算:

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\text{H2O2 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (C_{pr} \times V_{样本}) \\ = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$$

(2) 按照样本鲜重计算

$$\text{H2O2 含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (V_{样本} \div V_{提取} \times W) \\ = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$$

(3) 按照细菌或细胞个数计算:

$$\text{H2O2 含量 } (\mu\text{mol}/10^4) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (500 \times V_{样本} \div V_{提取}) \\ = 0.002 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$$

注: 500: 细胞/细菌个数, 以万计; C 标准: H2O2 标准溶液浓度, 1 $\mu\text{mol/mL}$;
V 样本: 加入的样本体积, 1mL; W: 组织质量, g; V 提取: 提取过程中所用体积, 1mL; C_{pr}: 样本蛋白浓度, mg/mL; V 血清(浆): 所用血清(浆) 体积, 0.1mL。

注意事项:

1. 由于丙酮易挥发, 丙酮必须先预冷再加, 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, 建议将样本用 试剂-A 稀释后进行测定。