

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K102-S

产品规格: 50 assays(48 samples)/ 100 assays(96 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计 (405 nm)

## Elabscience<sup>®</sup>过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 比色法测试盒

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

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: [biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。  
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、尿液、动植物组织及细胞样本中的  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量。

## 检测原理

$\text{H}_2\text{O}_2$  与钼酸铵反应生成稳定的黄色络合物且在 405 nm 处有最大吸收，黄色络合物的颜色深浅与  $\text{H}_2\text{O}_2$  的浓度在一定范围内具有线性关系。故可以通过比色计算出  $\text{H}_2\text{O}_2$  的含量。

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-S）。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	钼酸铵试剂 (Ammonium Molybdate Reagent)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	1 mol/L $\text{H}_2\text{O}_2$ 标准品 (1 mol/L $\text{H}_2\text{O}_2$ Standard)	12 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

## 所需自备物品

**仪器：**紫外-可见光分光光度计(405 nm)、涡旋混匀仪、微量移液器(1000  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{L}$ )、37°C恒温箱。

**耗材：**枪头(1000  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{L}$ )、EP管(5 mL, 2 mL)、吸水纸、擦镜纸。

**试剂：**双蒸水、生理盐水(0.9% NaCl)或PBS(0.01 M, pH 7.4)。

## 试剂准备

① 实验开始前将所有试剂平衡至室温。

② 60 mmol/L标准品的配制：

按试剂三：双蒸水为3:47的体积比混匀，如取60  $\mu\text{L}$ 的试剂三，加940  $\mu\text{L}$ 的双蒸水中，混匀，即为1 mL的60 mmol/L的过氧化氢。

## 样本准备

### ① 样本处理

血清血浆等液体样本：可直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(生理盐水(0.9% NaCl溶液)或PBS(0.01 M, pH 7.4))。匀浆后，4℃，10000 × g离心10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本：取10<sup>6</sup>细胞加入300-500 μL生理盐水(0.9% NaCl溶液)或PBS(0.01 M, pH 7.4)进行匀浆。匀浆后，4℃，10000 × g离心10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.5-150 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%小鼠肝匀浆	5-10
大鼠血清	不稀释	10%青椒匀浆	不稀释
小鼠血清	不稀释		

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01 M, pH 7.4)。

## 操作步骤

- ① 向空白管、标准管和样本管中，各加入 1 mL 试剂一于 5 mL EP 管中，置于 37°C 恒温箱中，预热 10 min。
- ② 向空白管中加入 0.1 mL 双蒸水；  
向标准管中加入 0.1 mL 60 mmol/L 过氧化氢标准品；  
向样本管中加入 0.1 mL 的待测样本。
- ③ 向步骤②中的各管加入 1 mL 试剂二，涡旋混匀。
- ④ 405 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管 OD 值。

## 操作表

	空白管	标准管	测定管
试剂一 (mL)	1	1	1
37°C 预热 10 min			
双蒸水 (mL)	0.1	--	--
60 mmol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 标准品 (mL)	--	0.1	--
待测样本 (mL)	--	--	0.1
试剂二 (mL)	1	1	1
混匀，405 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管 OD 值。			

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-S）。

## 结果计算

血清（浆）、尿液中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度计算公式：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 浓度} \\ (\text{mmol/L}) &= \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \end{aligned}$$

组织、细胞中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度计算公式：

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 浓度} \\ (\text{mmol/L}) &= \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times f \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

注解：

$\Delta A_1$ ：测定管 OD 值-空白管 OD 值

$\Delta A_2$ ：标准管 OD 值-空白管 OD 值

C：H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 标准品浓度（60 mmol/L）

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

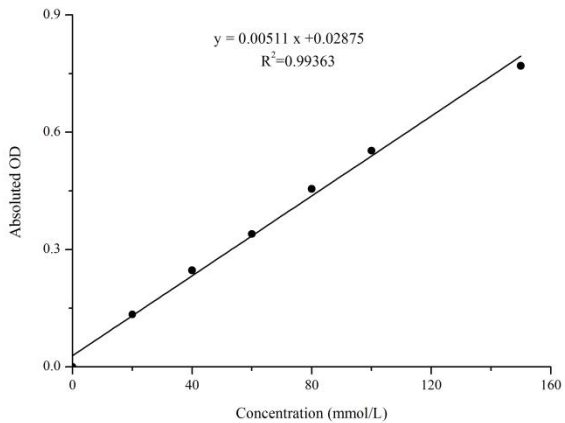
C<sub>pr</sub>：待测样本的蛋白浓度（g/L）

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	1.5-150 mmol/L	平均批间差	2.7%
灵敏度	1.5 mmol/L	平均批内差	1.3%
平均回收率	98%		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)



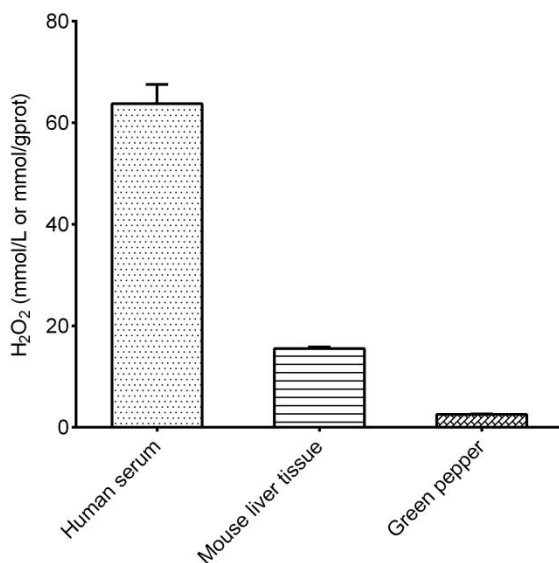
## 附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取0.1 mL人血清,按说明书操作,结果如下:空白管平均OD值为0.051,标准管平均OD值为0.422,测定管平均OD值为0.445,计算结果为:

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 浓度 (mmol/L)} = \frac{0.445-0.051}{0.422-0.051} \times 60 \times 1 = 63.72 \text{ mmol/L}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量0.1 mL)、小鼠肝脏组织(2%组织匀浆的蛋白含量1.82 g/L,加样量0.1 mL)、青椒(10%组织匀浆的蛋白含量1.99 g/L,加样量0.1 mL)中 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量(如下图)





### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定,复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样,避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果>150 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测
标准品的值较低	过氧化氢部分分解	使用前对过氧化氢的实际浓度进行校准

#### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

## 附录4 客户发表文献

1. Liu H , Ji M , Bi Y ,et al.Integration of MyD88 inhibitor into mesoporous cerium oxide nanozymes-based targeted delivery platform for enhancing treatment of ulcerative colitis[J].Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society, 2023:361.DOI:10.1016/j.jconrel.2023.08.015.
2. Chagas T Q , Freitas T N , Montalvo M F ,et al.Multiple ENDPOINTS of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (Danio rerio)[J].Chemosphere, 2021, 277(12):130279.DOI:10.1016/j.chemosphere.2021.130279.
3. Liu J , Yang Z , Yan Z ,et al.Chemical Micromotors Move Faster at Oil 欵 搨 ater Interfaces[J].
4. Li L , Wang C , Wang W ,et al.Uncovering the mechanisms of how corn steep liquor and microbial communities minimize cadmium translocation in Chinese cabbage[J].Environmental Science & Pollution Research, 2024, 31(15).DOI:10.1007/s11356-024-32579-5.
5. Alzharani M M , Almuqri E A , Ahmed M M ,et al.Exogenous Melatonin Supplement Contributes as Antioxidant to Attenuate the Oxidative Stress Induced by Cadmium Toxicity in Male Wistar Rats[J].Biomedical & Biotechnology Research Journal, 2024, 8(2).DOI:10.4103/bbrj.bbrj\_54\_24.



