

## H<sub>2</sub>S 含量测定试剂盒说明书

(货号：ADS-F-XH001 分光法 48 样)

### 一、产品简介：

H<sub>2</sub>S 被认为是细胞内第三种气体信号分子，在植物体内，参与植物生长发育、增强生物以及非生物抗逆性，延缓植物衰老的多种生理过程。在动物体内，对神经系统有调节作用，还可舒张血管平滑肌，降低血压。

在 Fe<sup>+3</sup>(作为氧化剂)存在的强酸性条件下，硫化氢与 N,N-二甲基对苯二胺反应生成蓝色的亚甲蓝，亚甲蓝在 665nm 处有最大吸收峰，故可根据亚甲蓝生成的量来计算植物组织中的 H<sub>2</sub>S 的含量。

### 二、测试盒组成和配制：

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求  |
|------|-------------|-------|
| 提取液  | 液体 60mL×1 瓶 | 4℃ 保存 |
| 试剂一  | 液体 4mL×1 瓶  | 4℃ 保存 |
| 试剂二  | 液体 4mL×1 瓶  | 4℃ 保存 |

### 三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

### 四、H<sub>2</sub>S 含量测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

#### 1、样本制备：

##### ① 组织样本：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按组织质量（g）：提取液体积(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 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液；冰浴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）；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（10<sup>4</sup>）：提取液体积(mL)为 500~1000:1 比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测，若浑浊则离心后取上清检测。

#### 2、上机检测：

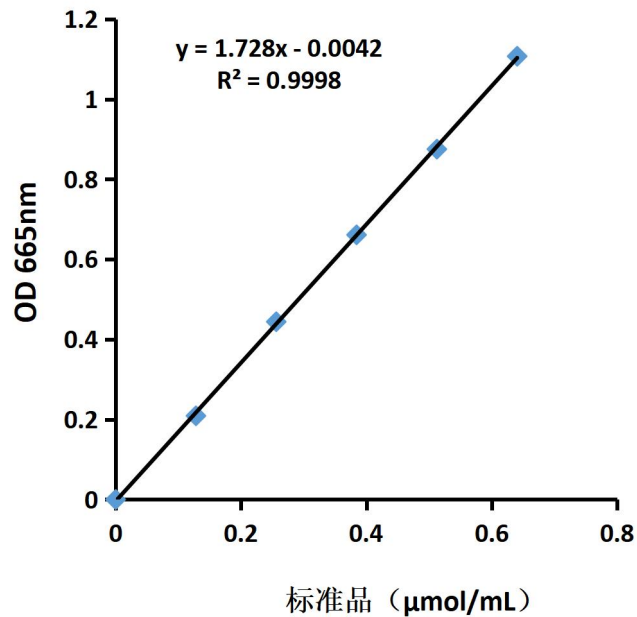
① 可见分光光度计预热 30min，调节波长至 665nm，蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入：

| 试剂名称 (μL)  | 测定管 | 空白管 (仅做一次) |
|--|-----|------------|
| 上清液  | 560 |            |
| 蒸馏水  |     | 560        |
| 试剂一  | 70  | 70         |
| 试剂二  | 70  | 70         |
| 混匀，室温（25℃）反应 15min，液体全部转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 665nm 处读取吸光值 A，ΔA=A 测定-A 空白。 |     |            |

### 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 1.728x - 0.0042$ ， $x$  是标准品摩尔浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )， $y$  是 $\Delta A$ 。



2、按照样本重量计算：

$$\text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0042) \div 1.728 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \\ = 0.58 \times (\Delta A + 0.0042) \div W$$

3、按细胞/细菌数量计算：

$$\text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ 个}) = [(\Delta A + 0.0042) \div 1.728 \times V1] \div (V1 \div V \times \text{细胞数量}) \\ = 0.58 \times (\Delta A + 0.0042) \div \text{细胞数量}$$

4、按照液体体积：

$$\text{H}_2\text{S}(\mu\text{mol/mL}) = [(\Delta A + 0.0042) \div 1.728 \times V1] \div V1 = 0.58 \times (\Delta A + 0.0042)$$

$V$ ---加入提取液体积，1mL；  $V1$ ---反应中样品体积，0.56mL；  $W$ ---样品质量，g。