

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0462

Size: 100T/96S

硫化氢 (H₂S) 含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

H₂S 是一种新型气态信号分子, 存在于脑内的神经递质, 生理浓度的 H₂S 对神经系统海马的长时程增强功能具有重要的调节作用, 并对自发性高血压、出血性休克及肝硬化等疾病的过程发挥着重要的病理生理效应。

二、测定原理:

H₂S 与醋酸锌、N, N-二甲基对苯二胺和硫酸铁铵等反应生成亚甲基蓝, 亚甲基蓝在 665nm 处有最大吸收峰, 通过测定其吸光值可计算 H₂S 含量。

三、需自备的仪器和用品:

天平、低温离心机、可见分光光度计或酶标仪、微量比色皿或 96 孔板、蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 1mL×1 管	4℃避光保存	
标准品	粉剂 3mg×1 管	4℃避光保存	

五、操作步骤：

1. 样品处理：

- (1) 组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆，然后 10000g，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。
- (2) 细菌、真菌：按照细胞数量 (10^4 个)：提取液体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液）冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 10000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。
- (3) 血清（浆）直接测定。

2. 测定步骤：（取 1.5ml 离心管，按照下表操作）

临用前将标准品加入 1ml 蒸馏水充分溶解则为 12.5 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ H₂S 标准品溶液，稀释 100 倍后为 0.125 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准品溶液（现配现用）

	空白管	测定管	标准管
样品 (μL)		50	50
蒸馏水 (μL)	50		
试剂一 (μL)	50	50	50
充分震荡混匀			
试剂二 (μL)	50	50	50
充分震荡混匀			
试剂三 (μL)	50	50	50
充分震荡混匀			
试剂四 (μL)	10	10	10
12000rpm, 4℃, 离心 10min, 取 200 μl 上清混匀, 25℃静置 20min, 于比色皿中, 测定 665nm 吸光值, 记为 A 空白、A 测定、A 标准。			

六、H₂S 含量计算公式：

(1) 按蛋白浓度计算

$$\text{H}_2\text{S 含量} (\mu\text{mol} / \text{mg prot}) = 0.125 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{H}_2\text{S 含量} (\mu\text{mol} / \text{g}) = 0.125 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W}$$

(3) 按细胞数量计算

$$\text{H}_2\text{S 含量} (\mu\text{mol} / 10^4 \text{ cell}) = 0.125 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{细胞数量}$$

(4) 按照液体体积计算

$$\text{H}_2\text{S 含量} (\mu\text{mol} / \text{mL}) = 0.125 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

七、注意事项：

如样本 OD 值大于标准品 OD，可稀释样本或增大标准品浓度