

土壤脱氢酶(sDHA)检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR015-48 微板法 48 样)

有效期: 3 个月

测定意义:

土壤脱氢酶(Soil dehydrogenase, sDHA)的活性可以反映土壤体系内活性微生物量以及其对有机物的降解活性, 可以作为土壤微生物的降解性能指标。

测定原理:

氢受体 2, 3, 5 - 氯化三苯基四氮唑 (2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride, TTC) 在细胞呼吸过程中接受氢以后, 被还原为三苯基甲蹼 (Triphenyl Formazone, TF), TF 呈现红色, 在波长 485nm 处有最大吸收峰, 采用分光光度法于 485nm 测定其吸光值, 即得土壤脱氢酶活性。

自备实验仪器及用品:

筛子、天平、恒温培养箱或水浴锅、低温离心机、漏斗, 滤纸、可见分光光度计、玻璃比色可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、冰、蒸馏水、丙酮 (不允许快递, 请用户自备)。

试剂的组成和配制:

试剂一: 粉剂×1 瓶, 使用前加 5mL 水溶解, 4℃ 避光保存 (尽量现配现用)。

试剂二: 液体 15mL 瓶, 4℃ 保存。

试剂三: 丙酮, 自备。

样品处理:

1. 土壤样品: 准确称取过 40 目筛的新鲜土壤样品约 0.1g (以保证 TTC 与土壤颗粒充分接触)。
2. 污泥样品: 污泥用蒸馏水洗涤, 12000rpm, 25℃, 离心 10 min, 弃上清, 反复 3-4 次。

测定步骤和操作表:

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 485nm, 对照管调零。

2、操作表

	对照管	测定管
样品 (g)	0.1	0.1
试剂一 (mL)		0.1
试剂二 (mL)	0.2	0.1
置于 EP 管中, 充分混匀, 37℃, 暗培养 12h, 取出后立即冰浴 5min		
试剂三 (mL)	0.1	0.1
反复震荡数次, 37℃ 保温 10min, 过滤, 滤液用试剂三定容至 0.4mL, 12000rpm, 4℃, 离心 5min, 取 200 μL 上清, 于微量石英比色皿/96 孔板, 测定 485nm 吸光度, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

脱氢酶活力计算:

酶活单位定义:

在 37℃ 时, 每小时每克样品使反应体系 OD 值每增加 0.01 为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{脱氢酶活性 (U/g)} &= \Delta A \div 0.01 \div T \div W \times V \text{ 反总} \\ &= 3.33 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

T: 培养时间 12h; W: 样品质量, g; V 反总: 0.4mL。

注意事项:

1. 配制好的试剂一避光保存于 4℃, 最好在一周内使用, 若出现红色, 则不能使用。

2. 试剂三易挥发，有毒，为了您的健康，请穿实验服，戴口罩，戴乳胶手套操作。
3. 反应完成后立即冰浴以终止反应，并去除干净残留的反应液。
4. 如果测定出来的吸光值较大，减少样品用量再进行测定。
5. 试剂盒 2-8℃ 保存。

艾迪生