

### 土壤脱氢酶(S-DHA)检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHC1-M48	土壤脱氢酶(S-DHA)检测试剂盒	48T	微量法

#### 一、测定意义

土壤脱氢酶（Soil dehydrogenase, S-DHA）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。

#### 二、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，被还原为三苯基甲腈（Triphenyl Formazone, TPF），TPF呈现红色，在波长485nm处有最大吸收峰，于485nm测定其吸光值，即得土壤脱氢酶活性。

#### 三、试剂组成

试剂名称	试剂装量	保存条件
试剂一 A	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂一 B	粉剂×2 支	2-8℃保存
<b>试剂一的配制：</b> 临用前取一支试剂一 B 加入一瓶试剂一 A 中，用 2.5mL 蒸馏水溶解，现配现用。		
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	乙酸乙酯 30 mL×1 瓶（自备）	2-8℃保存

#### 四、操作步骤

**样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）**

1、土壤样本：准确称取过 30-50 目筛的新鲜土壤样本约 0.1g（以保证 TTC 与土壤颗粒充分接触）。

2、污泥样本：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

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 485nm，分光光度计用蒸馏水调零。

2、操作表（在 2mL EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	对照管	测定管
样本（g）	0.05	0.05
试剂一（mL）	-	0.1
试剂二（mL）	0.2	0.1
充分混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱中，暗培养 24 h，取出后 <b>立即冰浴 5min</b>		
试剂三（mL）	0.3	0.3

剧烈震荡 10min, 15000rpm, 4°C, 离心 10min, 取上清 200 μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板 (非聚苯乙烯材质), 测定对照管和测定管在 485nm 下的吸光度, 分别记为  $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。计算  $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

注: 每个测定管需设一个对照管

## 五、土壤脱氢酶活力的计算

### A、用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

酶活单位定义: 在 37°C 时, 每小时每克样本使每 mL 反应体系 OD 值每增加 0.01 为一个酶活单位。

$$\text{土壤脱氢酶活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div 0.01 \div T \div W \times V_{\text{反应}} = 41.67 \times \Delta A$$

### B、用 96 孔板测定的计算公式如下

酶活单位定义: 在 37°C 时, 每小时每克样本使每 mL 反应体系 OD 值每增加 0.005 为一个酶活单位。

$$\text{土壤脱氢酶活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div 0.005 \div T \div W \times V_{\text{反应}} = 83.33 \times \Delta A$$

T: 反应时间, 24h;

W: 样本质量, 0.05g;

$V_{\text{反应}}$ : 反应总体积, 0.5mL。

## 六、注意事项

- 1、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。
- 2、如果测定出来的吸光值较大, 减少样本用量再进行测定, 若吸光值过小则延长培养时间。注意同步修改计算公式。
- 3、如果离心后待测的上清依然浑浊, 可尝试加大离心转速或延长离心时间, 例如 15000rpm, 4°C, 离心 20min。

## 七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广, 品质可靠。