土壤脱氢酶(S-DHA)活性检测试剂盒

Soil Dehydrogenase Assay Kit

微量法

货号：AK179

规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK179-A	粉剂×1 瓶	使用前加 5mL 蒸馏水溶解，尽量现配现用，4℃避光保存；
AK179-B	20mL×1 瓶	4℃保存；
AK179-C	丙酮	自备

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

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。

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，被还原为三苯基甲鹼（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。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板（非聚苯乙烯材质）、30-50 目筛、天平、恒温培养箱或水浴锅、低温离心机、冰、蒸馏水、丙酮（不允许快递，请用户自备）。

样品处理：

1. 土壤样品：准确称取过 30-50 目筛的新鲜土壤样品约 0.05g（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，10000g，25℃，离心 10 min，弃上清，反复 3- 4 次。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 485nm，丙酮调零。
2. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	对照管 (ml)	测定管 (ml)
样品 (g)	0.05 g	0.05 g
AK179-A		0.1
AK179-B	0.2	0.1
充分混匀，37℃，暗培养 6h，取出后立即冰浴 5min		
AK179-C	0.1	0.1
反复震荡数次，37℃保温10min，10000g，4℃，离心5min，取200μL 上清于微量玻璃比色皿/96 孔板，测定对照管和测定管的 OD 值，分别记为 A 对照、A 测定；计算 ΔA=A 测定-A 对照。 注：每个测定管需设一个对照管。		

脱氢酶活力计算：

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℃时，每克样品每小时使每 ml 反应体系 OD 值每增加 0.01 为一个酶活单位。

S-DHA（U/g）=ΔA÷0.01÷T÷W=333.3×ΔA

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

酶活单位定义：在 37℃时，每克样品每小时使每 ml 反应体系 OD 值每增加 0.005 为一个酶活单位。

S-DHA（U/g）=ΔA÷0.005÷T÷W=666.7×ΔA

注：T：培养时间，6h；W：样品质量，0.05g

注意事项：

1. 配制好的 AK179-A 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. AK179-C 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；若吸光值过小则延长培养时间，并注意同步修改计算公式。
5. 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时间。