

## 土壤脱氢酶(S-DHA)检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1830

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

### 产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单、简便的微量法，用于测定土壤中的 DHA。原理是氢受体 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，在 485nm 下测定 TF 生成速率，即得土壤脱氢酶活性。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	6mL	12mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃，避光保存
试剂三	自备	自备	室温
标准品	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃，避光保存

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 485nm 处的吸光度）烘箱、水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

台式离心机、振荡器、30-50 目筛

DMSO、去离子水

### 试剂准备

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：96T 粉剂×2 支，48T 粉剂×1 支，使用前每支加 1.5mL 试剂一涡旋溶解，4℃避光保存。最好在一周内使用，尽量现配现用，若出现红色，则不能使用。

试剂三：DMSO，自备。

标准品：每支加入 1mL DMSO 得 5mM ( $\mu\text{mol/mL}$ ) 的 TF 标准溶液，该溶液可 4 度保存一周。

标准曲线设置：按下表所示，用 DMSO 将 5  $\mu\text{mol/mL}$  标准品稀释为 1.6、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025  $\mu\text{mol/mL}$  标准溶液 的标准溶液。

	标准品体积 ( $\mu\text{L}$ )	DMSO 体积 ( $\mu\text{L}$ )	标准品浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )
标准品 1	64 $\mu\text{L}$ of 5 $\mu\text{mol/mL}$	136	1.6
标准品 2	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 1	100	0.8
标准品 3	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 2	100	0.4
标准品 4	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 3	100	0.2
标准品 5	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 4	100	0.1
标准品 6	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 5	100	0.05
标准品 7	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 6	100	0.025

## 产品说明书

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

### 样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30-50 目筛。

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 485nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

3. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样（g）	0.05	0.05	0	0
DMSO（ $\mu\text{L}$ ）	0	0	0	25
标准溶液（ $\mu\text{L}$ ）	0	0	25	0
试剂二	25	0	0	0
试剂一	25	50	25	25
充分混匀，37℃避光反应 12h，取出后立即冰浴 5min				
试剂三	225	225	225	225

充分振荡混匀，37℃保温 10min，12,000g，25℃，离心 10min，取 200  $\mu\text{L}$  上清于 96 孔板或微量石英比色皿中测定 485nm 处吸光值 A，计算相对吸光值  $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 、 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白和标准曲线只需做一次，每管设一个对照管）

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A_{\text{测}}$  小于 0.001 可适当加大样本量，如果  $\Delta A_{\text{测}}$  大于 1.0，可适当减少样本量，注意调整公式中的样本质量 W。

### 结果计算

1. 标准曲线的绘制

以 TF 标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将样本的  $\Delta A_{\text{测}}$  代入方程得到 y 值（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。

2. 土壤 DHA 活性量的计算 在 37℃ 时，每克土壤样品每天。

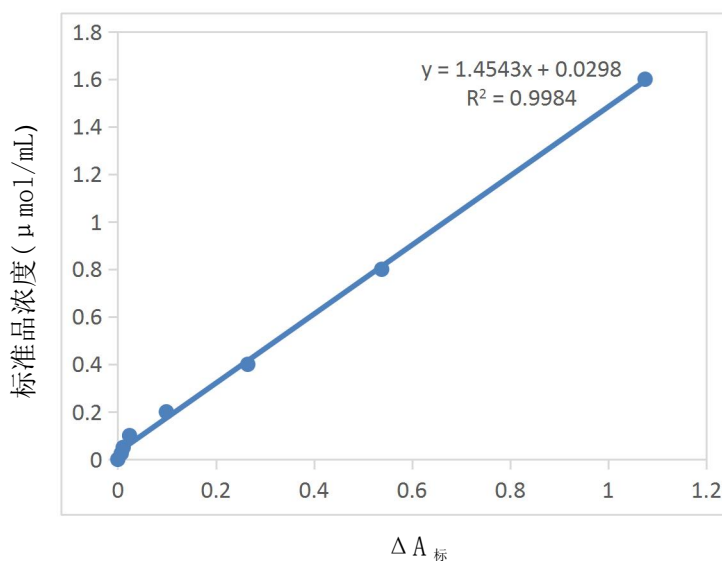
酶活力单位定义：每天每 g 土样在反应体系中催化产生 1  $\mu\text{mol}$  TF 为一个酶活性单位 U。

土壤 DHA 活力 ( $\text{U/g}$  土样) =  $y \times V_{\text{反应}} \div W \div T \times y$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.05mL；W：样本质量，0.05g；T：反应时间，12h=1/2d。

### 结果展示

#### 典型标准曲线



## 产品说明书

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1819 土壤脲酶 (S-UE) 检测试剂盒 (微量法)  
PMK1821 土壤  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (S- $\alpha$ -GC) 检测试剂盒 (微量法)  
PMK1823 土壤纤维素酶 (S-CL) / 羧甲基纤维素酶检测试剂盒 (微量法)  
PMK1824 土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 检测试剂盒 (微量法)  
PMK1825 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 检测试剂盒 (微量法)  
PMK1826 土壤蔗糖酶 (S-SC) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

