北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www. bjoka- vip. com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

土壤脱氢酶（S-DHA）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：D17087

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	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
试剂二	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	自备试剂	-

溶液的配制：

1、试剂一：临用前取一支试剂一B 加入一瓶试剂一 A 中，用 8mL 蒸馏水溶解（约 20S）。现配现用。配制好后避光保存于 2-8℃，最好在一周内使用，若出现红色，则不能使用。

2、试剂三：自备乙酸乙酯，大约需要70mL，常温保存；试剂盒内提供一个30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称。

产品简介：

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。

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，被还原为三苯基甲臜（Triphenyl Formazone，TF），TF 呈现红色，在波长 485nm 处有最大吸收峰，在 485nm 处测定其吸光值，即得土壤脱氢酶活性。

$$RH_2 \xrightarrow{\text{S-DHA}} 2H^+ \xrightarrow{\text{TTC}} \text{Triphenyl Formazone (TF，485nm)}$$

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、30-50 目筛、天平、研钵、恒温培养箱/水浴锅、低温离心机、冰、蒸馏水、乙酸乙酯（>98%，AR）。

操作步骤：

一、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。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至485nm，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）	0.1	0.1
试剂一（mL）	-	0.4
试剂二（mL）	0.8	0.4
充分混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱中，暗培养 24 h，取出后**立即冰浴 5min**		
试剂三（mL）	1.2	1.2
剧烈震荡 10min，15000rpm，4℃，离心 10min，取上清 1mL 于 1mL 玻璃比色皿，测定对照管和测定管在 485nm 下的吸光度，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。		

三、土壤脱氢酶活力的计算

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

土壤脱氢酶活性（U/g 土样）=ΔA ÷0.01÷T÷W×V 反总=83.33×ΔA

T：反应时间，24 h；W：样本质量，0.1g；V 反总：反应总体积，2 mL。

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时间，例如15000rpm，4℃，离心 20min。

相关发表文献

[1] Han Z, Osman R, Liu Y, Wei Z, Wang L, Xu M. Analyzing the impacts of cadmium alone and in co-existence with polypropylene microplastics on wheat growth. Front Plant Sci. 2023 Aug 10; 14:1240472. doi: 10.3389/fpls.2023.1240472. PMID: 37636097; PMCID: PMC10449543.

[2] Ali M, Song X, Wang Q, Zhang Z, Zhang M, Chen X, Tang Z, Liu X. Thermally enhanced biodegradation of benzo[a]pyrene and benzene co-contaminated soil: Bioavailability and generation of ROS. J Hazard Mater. 2023 Aug 5; 455:131494. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.131494. Epub 2023 Apr 25. PMID: 37172381.

[3] Li X, Lu H, Yang K, Zhu L. Attenuation of tetracyclines and related resistance genes in soil when exposed to nanoscale zero-valent iron. J Hazard Mater. 2023 Apr 15; 448:130867. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.130867. Epub 2023 Jan 31. PMID: 36758429.

[4] Sun H, Xing R, Ye X, Yin K, Zhang Y, Chen Z, Zhou S. Reactive oxygen species accelerate humification process during iron mineral-amended sludge composting. Bioresour Technol. 2023 Feb; 370:128544. doi: 10.1016/j.biortech.2022.128544. Epub 2022 Dec 27. PMID: 36584721.

[5] Zhou H, Liu Q, Jiang L, Shen Q, Chen C, Zhang C, Tang J. Enhanced remediation of oil-contaminated intertidal sediment by bacterial consortium of petroleum degraders and biosurfactant producers. Chemosphere. 2023 Jul; 330:138763. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.138763. Epub 2023 Apr 22. PMID: 37094722.

[6] Li N, Chen J, Liu C, Yang J, Zhu C, Li H. Cu and Zn exert a greater influence on antibiotic resistance and its transfer than doxycycline in agricultural soils. J Hazard Mater. 2022 Feb 5;423(Pt B):127042. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127042. Epub 2021 Aug 26. PMID: 34536850.

参考文献:

[1] Kumar S, Chaudhuri S, Maiti S K. Soil dehydrogenase enzyme activity in natural and mine soil-a review[J]. Middle-East Journal of Scientific Research, 2013, 13(7): 898-906.

[2] Friedel J K, Mölter K, Fischer W R. Comparison and improvement of methods for determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and iodonitrotetrazolium chloride[J]. Biology and fertility of soils, 1994, 18(4): 291-296.

