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（Soil dehydrogenase, sDHA）试剂盒说明书

微量法 100T/96S

注意： 正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

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， 被还原为三苯基甲瞹（Triphenyl Formazone, TF），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、 可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、 蒸馏水、 甲醇（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 10mL 试剂二溶解， 4℃避光保存(尽量现配现用)。

试剂二：液体 20mL×1 瓶， 4℃保存。

试剂三：**甲醇，自备**。

样品处理

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干， 过 30~50 目筛。

测定步骤和操作表：

	空白管	测定管
样 品（g）		0.05
试剂一（ μL）		100
试剂二（ μL）	100	
充分混匀， 37℃培养24h		
试剂三（ μL）	900	900
振荡 1h，8000g，25℃，离心 5min，取 200μL 上清于微量石英比色皿/96 孔板，测定 A_{485}，△A=A 测定-A 空白管。空白管只要做一管。		

脱氢酶活力计算：

标准曲线： y = 0.0211x - 0.0312；R^2 = 0.9988 ； x 为标准品浓度(μg/mL)， y 为反光值

酶活单位定义： 在 37℃时，每克土壤样品每天催化产生 1 μ gTF 为一个酶活性单位。

sDHA （μg/ d /g 土样）= （△A+0.0312）÷0.0211×V 反总÷W÷T= 47.3×（△A+0.0312）×V

V 反总： 反应总体积， 1mL；T：培养时间，1d；W：样品质量，g

注意事项：

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。