

土壤脱氢酶（S-DHA）活性检测试剂盒说明书

微量法

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：BC0395

规格：100T/48S

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 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶（自备）	2-8℃保存

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，加入 2.5 mL 蒸馏水溶解。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（2.5mL 可以加 25 次）。

2、试剂三：自备乙酸乙酯。提供一个 15mL 试剂瓶。

产品说明：

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



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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板（非聚苯乙烯材质）、研钵、30-50 目筛、天平、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 0.05g（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 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24h，取出后立即冰浴5min		
试剂三 (mL)	0.3	0.3
剧烈震荡10min，15000rpm，4℃，离心10min，取200μL上清，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。		

三、土壤脱氢酶活力计算

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。

土壤脱氢酶活性 (U/g 土样) = $\Delta A \div 0.01 \div T \div W \times V$ 反总 = $41.67 \times \Delta A$

B、用96孔板测定的计算公式如下

酶活单位定义：在37℃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。

土壤脱氢酶活性 (U/g 土样) = $\Delta A \div 0.005 \div T \div W \times V$ 反总 = $83.33 \times \Delta A$

T：反应时间，24h；W：样本质量，0.05g；V 反总：反应总体积，0.5mL。

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] Huang J, Ye J, Gao W, Liu C, Price GW, Li Y, Wang Y. Tea biochar-immobilized *Ralstonia* Boul-1 increases nitrate nitrogen content and reduces the bioavailability of cadmium and chromium in a fertilized vegetable soil. *Sci Total Environ.* 2023 Mar 25;866:161381. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.161381. Epub 2023 Jan 5. PMID: 36621509.

[2] Gong P, Gao D, Hu X, Tan J, Wu L, Liu W, Yang Y, Jin E. Changes of bacterial and fungal communities and relationship between keystone taxon and physicochemical factors during dairy manure ectopic fermentation. *PLoS One.* 2022 Dec 19;17(12): e0276920. doi: 10.1371/journal.pone.0276920. PMID: 36534655; PMCID: PMC9762577.

[3] 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.

[4] Liu T, Wang S, Chen Y, Luo J, Hao B, Zhang Z, Yang B, Guo W. Bio-organic fertilizer promoted phytoremediation using native plant *leymus chinensis* in heavy Metal(loid)s contaminated saline soil. *Environ Pollut.* 2023 Jun 15; 327:121599. doi: 10.1016/j.envpol.2023.121599. Epub 2023 Apr 8. PMID: 37037280.

[5] Zhuang X, Wang Y, Wang H, Dong Y, Li X, Wang S, Fan H, Wu S. Comparison of the efficiency and microbial mechanisms of chemical- and bio-surfactants in remediation of petroleum hydrocarbon. *Environ Pollut.* 2022 Dec 1;



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.

相关系列产品:

- BC0860/BC0865 土壤酸性蛋白酶活性检测试剂盒
- BC0280/BC0285 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒
- BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒
- BC4030/BC4035 土壤 β -1,4-葡聚糖酶 (S-C1) 活性检测试剂盒

