

## 土壤丙二醛 (S-MDA) 含量测定试剂盒说明书

(货号: ADS-F-TR075-96 分光法 96 样 有效期: 6 个月)

### 一、指标介绍:

丙二醛 (MDA)是由于生物体官衰老或在逆境条件下受伤害, 其组织或器官膜脂质发生过氧化反应而产生的。它的含量与生物体衰老及逆境伤害有密切关系。土壤丙二醛(S-MDA)的含量主要来源于植物在逆境胁迫下产生的代谢产物。

土壤 MDA(S-MDA)在高温、酸性条件下, 与硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid,TBA)缩合, 生成红色产物, 在 532nm 有最大吸收峰, 进行比色后可估测样品中过氧化脂质的含量; 同时测定 600nm 下的吸光度, 利用 532nm 与 600nm 下的吸光度的差值计算 S-MDA 的含量。

### 二、试剂盒的组成和配制:

| 试剂组分 | 试剂规格        | 存放温度    | 注意事项   |
|------|-------------|---------|--|
| 工作液  | 液体 60mL×2 瓶 | 4°C避光保存 | 若有沉淀析出, 50°C水浴至溶解。溶解后一个月内使用完毕可室温避光保存, 长期保存则需 4 度避光保存(保存期间若有沉淀析出可再次 50°C水浴至溶解待用)。 |

### 三、实验器材:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm, 狹缝 3mm)、水浴锅/金属浴、台式离心机、可调式移液器。

### 四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

#### 1、样本提取:

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛网, 备用。

#### 2、检测步骤:

①打开分光光度计预热 30min, 蒸馏水调零, 同时水浴锅加热到 90-95°C。

②在 EP 管中依次加入:

| 试剂组分 (μL)  | 测定管  |
|--|------|
| 土壤样本(g)  | 0.2  |
| 工作液(需缓慢加入土中)   | 1000 |
| 混匀后, 在 90°C 水浴中保温 30min, 取出冷却至室温, 25°C, 12000rmp 离心 10min, 转移全部上清液于 1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)中, 分别于 532nm 和 600nm 处读取吸光度 $A, \Delta A = A_{532} - A_{600}$ |      |

#### 【注】:

1. 上述反应液煮沸时, 容易崩开, 请务必注意安全, 同时避免液体溅出。

2. 为避免离心管沸水浴崩开, 可采取下述方法:

- (1) 重物压紧管盖;
- (2) 采用螺旋式离心管;
- (3) 采用防爆夹夹紧管口;
- (4) 采用封口膜紧紧缠绕管口;
- (5) 用干净的实验剪刀在离心管盖上戳开一个小口 (该方案需避免水浴进水)。

3.吸取上清液测定时,若有大量气泡产生,建议反复吹打至气泡消失后,再缓慢加入1mL玻璃比色皿(光径1cm)中进行测定。

4.若 $\Delta A$  小于 0.01,可增加样本取样质量 W, 则改变后的 W 带入公式计算。

## 五、结果计算:

### 1、按样本鲜重计算:

$$S\text{-MDA 含量}(\text{nmol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (e \times d) \times V_2 \times 109] \div W = 6.45 \times \Delta A \div W$$

$V_2$ --- 反应总体积,  $1 \times 10^{-3}\text{L}$ ;

$d$ ---比色皿光径,  $1\text{cm}$ ;

$\epsilon$ ---MDA 摩尔消光系数,  $155 \times 10^3\text{L/mol/cm}$ ;

$W$ ---样本质量,  $\text{g}$ 。

