

土壤丙二醛 (S-MDA) 含量测定试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR075 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

丙二醛 (MDA) 是由于生物体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 50mL×1 瓶	4℃避光保存	若有沉淀析出, 50℃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℃水浴至溶解待用)。

三、实验器材:

酶标仪、96 孔板、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℃烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛网, 备用。

2、检测步骤:

①打开酶标仪, 同时水浴锅加热到 90-95℃。

②在 EP 管中依次加入:

试剂组分 (μL)	测定管
土壤样本(g)	0.1
工作液(需缓慢加入土中)	400
混匀后, 在 90℃水浴中保温 30min, 取出冷却至室温, 25℃, 12000rpm 离心 10min, 取 200μL 上清液至 96 孔板中, 分别于 532nm 和 600nm 处读取吸光度 A, $\Delta A = A_{532} - A_{600}$ 。	

【注】:

- 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。
- 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)。
- 吸取 200L 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 96 孔板中进行测定。
- 若 ΔA 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：

$$\text{S-MDA 含量(nmol/g 鲜重)}=[\Delta A \div (e \times d) \times V \times 1091 \div W = 5.16 \times \Delta A \div W]$$

V2--- 反应总体积, $4 \times 10^4 \text{ L}$;

d--- 光径, 0.5cm;

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

W---样本质量, g。