

土壤丙二醛 (S-MDA)含量测定试剂盒说明书

(货号: G0356F 分光法 48 样)

一、产品简介:

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、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
工作液	液体 55mL×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、所需的仪器和用品:

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

四、土壤丙二醛 (S-MDA) 的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

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、上机检测

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℃。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (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 90-95℃水浴中保温 30min (管口用封口膜封紧或者用重物压实), 取出放冰上冷却, 25℃, 12000rpm 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, 务必避免液体溅出, 时刻注意安全。

2. 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。

3. 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:

S-MDA 含量(nmol/g 鲜重) = $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div W = 6.45 \times \Delta A \div W$

V2---反应总体积, 1×10^{-3} L;

d---比色皿光径, 1cm;

ϵ ---MDA 摩尔消光系数, 155×10^3 L/mol /cm;

W---样本质量, g。

