

## 土壤丙二醛 (S-MDA)含量测定试剂盒说明书

(货号: G0356W 微板法 96 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、试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求   | 备注                                                                              |
|------|-------------|--------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 工作液  | 液体 45mL×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:

酶标仪、96 孔板、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 打开酶标仪, 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)                                                                                                                                                       | 0.1 |
| 工作液                                                                                                                                                            | 400 |
| 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, 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】: 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 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。

3. 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、按样本重量计算:

S-MDA 含量(nmol/g 鲜重) =  $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \times 10^9] \div W = 5.16 \times \Delta A \div W$

V---反应总体积,  $4 \times 10^{-4}$  L;

d---光径, 0.5cm;

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

W---样本质量, g。

