

# 土壤精氨酸脱氨酶活性测定试剂盒

(微板法 48 样)

## 产品简介:

氮素是限制植物生长发育的主要营养元素之一，土壤氮素是植物氮素营养的主要来源。其中土壤精氨酸脱氨酶也与土壤中氮转化有着密切关系。

本试剂盒利用精氨酸脱氨酶水解精氨酸生成  $\text{NH}_3\text{-N}$ ，该产物在强碱性介质中与次氯酸盐和苯酚反应，生成水溶性染料靛酚蓝，通过检测生成的有色物质在 630nm 的最大光吸收峰，进而得出土壤精氨酸脱氨酶活力大小。

## 试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg×2 瓶	4℃保存	临用前每瓶加入 18mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍 4℃保存；
试剂二	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	避光保存。
试剂四	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	A: 液体 3.5mL×2 瓶 B: 液体 $\mu\text{L}$ ×1 支	4℃保存	临用前取 30 $\mu\text{L}$ 的 B 液进一瓶 A 液中，混匀后作为试剂五使用。混匀后的试剂五一周内用完。
标准品	液体 1 mL×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

## 所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅或恒温培养箱、离心机、可调式移液器、蒸馏水。

## 土壤精氨酸脱氨酶活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

### 1、样本制备：

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干，先粗研磨，过 40 目筛网，备用。

### 2、上机检测：

① 培养：取 EP 管依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.5	0.5
试剂一	600	
蒸馏水		600
混匀，放入 37°C 水浴锅或恒温培养箱中孵育 3 小时		
试剂二	600	600
震荡提取 30min，8000rpm，25°C 离心 5min，取上清液。		

② 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 630nm。

③ 显色反应：在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	15	15
蒸馏水	45	45
试剂三	60	60

试剂四	30	30
试剂五	60	60
混匀, 37°C放置 20min 后, 于 630nm 读取吸光值 A, $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管 (每个样本做一个自身对照)。		

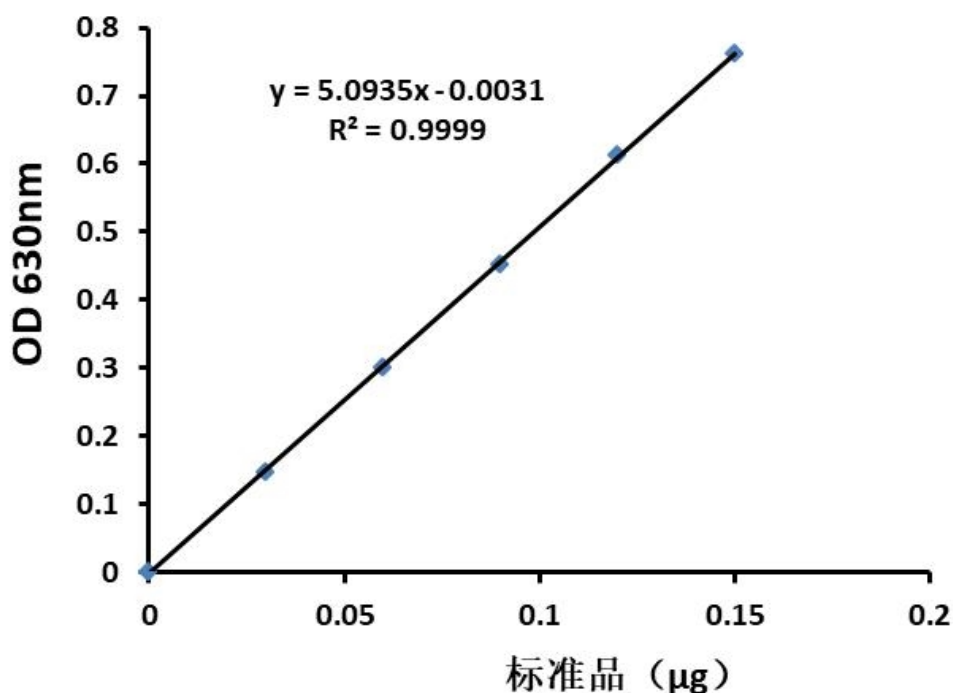
**【注】**:1. 试剂三和四和五需分开加, 不能事先混匀。

2. 若 $\Delta A$  值较小, 可增加 37°C孵育时间 T (如由 3 小时增至 6 小时或更多) 或在显色反应阶段增加上清液量 V1(如增至 30 $\mu$ L, 则蒸馏水体积相应减少); 则改变后的 T 和 V1 需代入计算公式重新计算。

3. 若 A 测定的值大于 1.5, 可在显色反应阶段减少上清液量 V1(如减至 5 $\mu$ L, 则蒸馏水体积相应增加); 则改变后的上清液体积 V1 需代入计算公式重新计算。

## 结果计算:

1、**标准曲线方程**:  $y = 5.0935x - 0.0031$ ; x 为标准品质量 ( $\mu$ g), y 为吸光值 $\Delta A$ 。



**2、土壤酶活定义：**每天每克土样中产生 1 $\mu$ g 的 NH<sub>3</sub>-N 定义为一个酶活力单位。

土壤精氨酸脱氨酶活力( $\mu$ g/d/g 土样)=( $\Delta A+0.0031$ ) $\div$ 5.0935 $\times$ (V $\div$ V1) $\div$ W $\div$ T

=125.7 $\times$ ( $\Delta A+0.0031$ ) $\div$ W

V---反应总体积, 1200 $\mu$ L; V1---显色反应中上清液体积, 15 $\mu$ L;

T---反应时间, 3h=1/8d; W---土壤样本实际取样质量, g。

**附：标准曲线制作过程：**

- 1 把标准品母液 (1mg/mL) , 用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 2, 4, 6, 8, 10.  $\mu$ g/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 2 在显色反应阶段, 按照测定管加样表操作, 依据结果即可制作标准曲线。