

# 土壤精氨酸脱氨酶活性测定试剂盒

## 分光法 24 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×1 瓶	4°C保存	临用前加入 18mL 蒸馏水，充分溶解备用， 用不完的试剂仍 4°C保存。
试剂二	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 13mL×1 瓶	4°C保存	避光保存。
试剂四	液体 7mL×1 瓶	4°C保存	
试剂五	A: 液体 7mL×2 瓶	4°C保存	临用前取 60μL 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。
	B: 液体 μL×1 支		

标准品	粉体 mg×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：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、离心机、水浴锅或恒温培养箱、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℃ 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℃离心 5min，取上清液。		

② 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 630nm。

③ 显色反应：在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
-----------	-----	-----

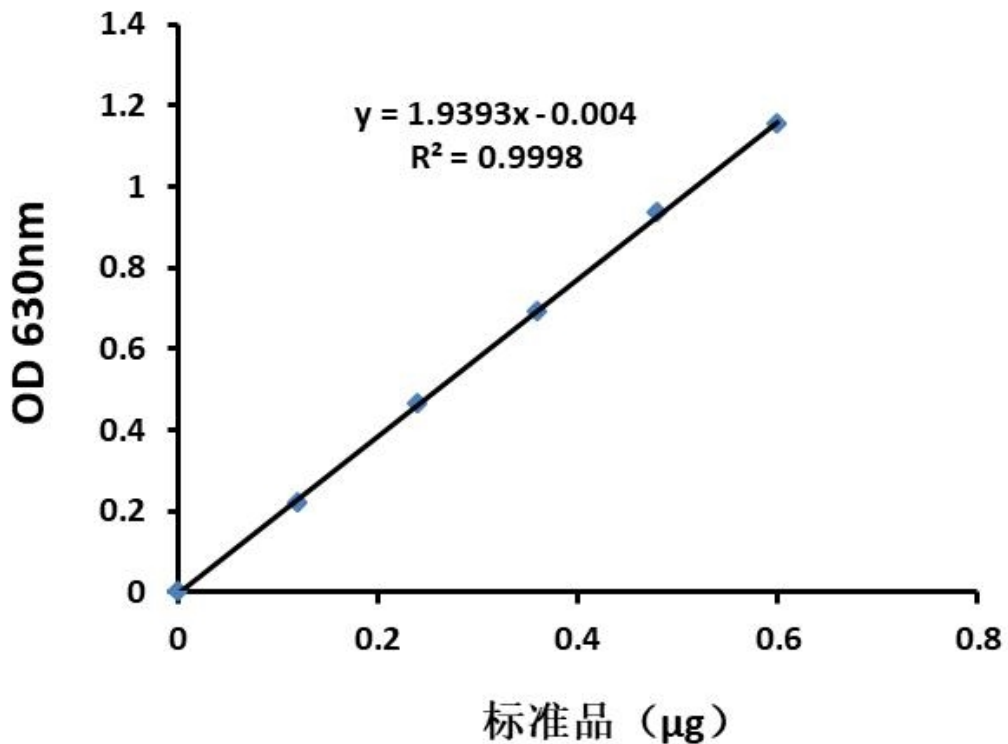
上清液	60	60
蒸馏水	180	180
试剂三	240	240
试剂四	240	240
试剂五	240	240

混匀，37°C放置 20min 后，于 630nm 读取吸光值 A，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ （每个样本做一个自身对照）。

## 结果计算:

### 1、标准曲线:

$y = 1.9393x - 0.004$ ; x 为标准品质量 ( $\mu\text{g}$ ), y 为吸光值  $\Delta A$ 。



## 2、土壤酶活定义：

2、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。

$$\begin{aligned} \text{土壤精氨酸脱氨酶活力}(\mu\text{g/d/g 土样}) &= (\Delta A + 0.004) \div 1.9393 \times (V \div V1) \div W \div T \\ &= 82.5 \times (\Delta A + 0.004) \div W \end{aligned}$$

V---反应总体积, 1200 $\mu$ L; V1---显色反应中上清液体积, 60 $\mu$ 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