

## 土壤精氨酸脱氨酶活性测定试剂盒说明书

(货号: G0350W 微板法 48 样)

### 一、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。

### 二、试剂盒组分与配制:

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。

### 三、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。

### 四、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、样本的制备:

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 ( $\mu\text{L}$ )	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 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 ( $\mu\text{L}$ )	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℃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）。		

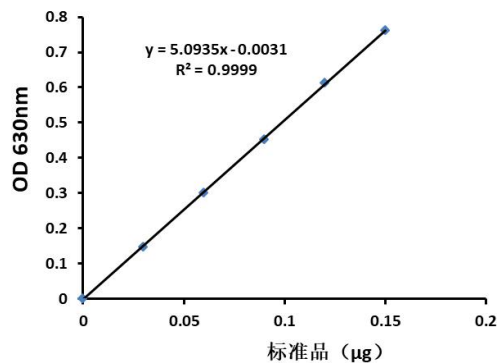
【注】1. 试剂三和四和五需分开加，不能事先混匀。

2. 若  $\Delta A$  值较小，可增加 37℃ 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。

## 五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 5.0935x - 0.0031$ ；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  $\text{NH}_3\text{-N}$  定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤精氨酸脱氨酶活力}(\mu\text{g/d/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0031) \div 5.0935 \times (V \div V1) \div W \div T \\ &= 125.7 \times (\Delta A + 0.0031) \div W \end{aligned}$$

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。