

土壤精氨酸脱氨酶活性测定试剂盒(微板法)

产品货号: BA2802

产品规格: 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NH3.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。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂一	粉剂mg×2瓶	2-8°C	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	2-8°C	
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8°C	避光保存
试剂四	液体3mL×1瓶	2-8°C	
试剂五	A: 液体3.5mL×2瓶 B: 液体μL×1支	2-8°C	临用前取30μL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1mL×1支	2-8°C	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、可调式移液器、离心机、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 5mn, 取上清液。					

- ② 酶标仪预热 30min 以上,调节波长 630nm.
- ③ 显色反应,在96孔板中依次加入:



Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号 电话: 400-611-0007 13671551480

0 0:807961520 邮箱: saintbio@126.com http://www.saint-bio.com



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

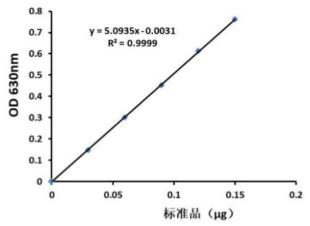
混匀, 37℃放置 20min 后, 于 630nm 读取吸光值 A, ΔA=A 测定管-A 对照 管(每个样本做一个自身对照)。

【注】:

- 试剂三和四和五需分开加,不能事先混匀。
- 若ΔA 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 30μL,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。
- 若 A 测定的值大于 1.5, 可在显色反应阶段减少上清液的量 V1(如减至 5μL, 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:

标准曲线方程: y=5.0935x-0.0031, x是标准品质量(μg), y是ΔA。



土壤酶活定义:每天每克土样中产生1µg的NH3-N定义为一个酶活力单位。 土壤精氨酸脱氨酶活力(μ g/d/g 土样)=(Δ A+0.0031)÷5.0935×(V÷V1)÷W÷T $=125.7\times(\Delta A+0.0031)\div W$

V--反应总体积, 1200μL; V1---显色反应中上清液体积, 15μL; 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.μg/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。



地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号 电话:400-611-0007 13671551480

0 0:807961520 邮箱: saintbio@126.com http://www.saint-bio.com