

[Sem zadejte text.]

Název laboratoře: Laboratoře Půdní environmentální chemie a toxikologie – SoilECT
Název instituce: Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí
Přírodovědecká fakulta
Masarykova univerzita
Adresa: Kamenice 126/3, Brno, 625 00
Vedoucí: Prof. RNDr. Jakub Hofman, PhD.

STANDARDNÍ OPERAČNÍ PROCEDURA

SOILETOX-SOP-15

STANOVENÍ AMONIFIKACE ARGININU (POTENCIÁLNÍ AMONIFIKACE, PAMO)

(verze 2.0)

ZPRACOVATEL METODY

Dne 10.9.2012 v Brně

RNDr. Jitka Černošáková, Ph.D., Doc. RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

Verze upravená pro cvičení:

Účinky stresorů v ekosystémech_ terestrická část

Klára Šmídová 19.5.2022

[Sem zadejte text.]

POUŽITELNOST METODY

Pro všechny typy a druhy půd. Půda by měla být odebrána a manipulována ve shodě s ISO 10381-6 (1993). Analýza by měla být provedena co nejdříve po odběru půdy. Před měřením by měla půda být skladována ve 4°C maximálně 3 měsíce.

PRINCIP A STRUČNÝ POPIS METODY

Aminokyseliny uvolněné z proteinů extracelulárními enzymy během proteolýzy jsou uvnitř mikrobiálních buněk dále metabolizovány (deaminace) a vznikají amonné ionty. Amonifikace aminokyseliny argininu je běžný mikrobiální proces. Inkubace půdy s přídatkem L-argininu a následné stanovení produkce amonných iontů v půdním extraktu se využívá pro stanovení potenciální amonifikační aktivity.

ZDROJOVÉ NORMY A CITACE

Alef and Kleiner (1987): Arginine ammonification: In Alef, K. and Nannipieri P.: Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry, Academic Press London, pp. 238-240

PŘÍSTROJE A POMŮCKY

třepačka, centrifuga, vortex, váhy, lžička, 15 ml polystyrénové zkumavky s víčky, pipeta 5 ml, mikropipeta 0 - 1000 µl se špičkou, 96 jamkové mikrodestičky, spektrofotometr na mikrodestičky, permanentní popisovač

POUŽITÉ CHEMIKÁLIE

L-arginin (50 mg/ 50 ml) - **připravit**
chlorid draselný 1 M (74,55 g KCl/l) - extrakční roztok
navážka: 500 ml 37,27 g KCl - **připravit**
 1000 ml 74,55 g KCl

destilovaná voda

Poznámky pro mě

Lufa:

WHC: 0,44 ml/g

Dry mass: 93,47%

Dovlhčit na 60% WHC – 0,2646 ml/g soil

ekv. 2gdw – 2,14 gww, ekv. 10 gdw – 10,70 g ww

[Sem zadejte text.]

PRACOVNÍ POSTUP – PAMO

Předinkubace:

týden před stanovením navážíme potřebné množství půdy do vhodné nádoby, ovlhčíme na 60% WHC a inkubujeme v termostatu při $20 \pm 2^\circ\text{C}$, v temnu.

Stanovení:

1. předinkubovanou půdy rozvážíme po **2g sušiny** do polyetylenových zkumavek, měření provádíme ve dvou sadách – kontrola(K) a arginin (arg), pro každou připravíme 2 opakování (→ celkem tedy navážíme 4 x po 2 g od každé půdy)
2. do **sady arginin** napipetujeme **1 ml roztoku argininu**, protřepeme na vortexu, a dáme inkubovat do termostatu na **30°C (37°C)** po dobu **3 hod.**
do **kontrolní sady** přidáme **1 ml destilované vody**, protřepeme na vortexu, a dáme do mrazáku na 3 hod (! cca 0,5 hod před koncem vytáhneme a necháme rozmrznout !)
3. po třech hodinách inkubace do obou sad (K i arg) přidáme 10 ml 1M roztoku KCl, důkladně protřepeme (popř. vortexem) a dáme na třepačku na 45 min, 150-200 rpm
4. zkumavky dáme centrifugovat na 5 min při 2500 rpm (pozor na vyvážení centrifugy – zkontrolujeme na vahách!)
5. v supernatantu stanovíme množství amonných iontů podle SOP-11a

Vyhodnocení:

Potenciální amonifikace PAMO:

$$\text{NH}_4^+\text{-N } (\mu\text{g/g sušiny/hod}) = \frac{[\text{arginin (NH}_4^+\text{-N } \mu\text{g/g}_{\text{suš}}) - \text{kontrola (NH}_4^+\text{-N } (\mu\text{g/g}_{\text{suš}})]}{3 \text{ (hod)}}$$

Odečet provádíme metodou randomizace (rozdíl každý od každého), ze získaných hodnot vypočítáme průměr a SD.