

土壤酸性蛋白酶活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0860

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

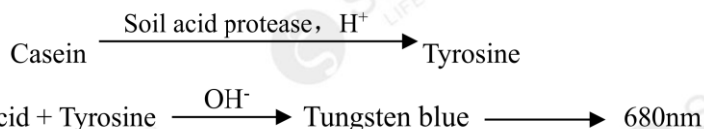
试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 12 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂六	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 10 mL 试剂六，沸水浴搅拌溶解后待用，用不完的试剂 2-8℃保存 1 个月。
- 2、标准品：20μmol/mL 酪氨酸溶液。

产品说明：

土壤蛋白酶参与土壤中存在的氨基酸、蛋白质以及其他含蛋白质氮的有机化合物的转化，其水解产物是高等植物的氮源之一。土壤酸性蛋白酶在酸性环境下催化蛋白质水解，与土壤有机质含量、氮素及其他土壤性质有关。酸性条件下，土壤酸性蛋白酶可将酪蛋白水解产生酪氨酸；在碱性条件下，酪氨酸还原磷钨酸化合物生成钨蓝，在680nm有特征吸收峰。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、1mL玻璃比色皿、台式离心机、研钵、蒸馏水、30-50 目筛。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min 以上，调节波长至680nm，蒸馏水调零。
- 2、标准溶液的稀释：取10μL 20μmol/mL酪氨酸标准液，加入990μL蒸馏水，充分混匀，配制成0.2μmol/mL标准液使用，现用现配。（实验中每管需要220μL，为减小实验误差，故配制大体积。）





3、样本测定

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.1	0.1	-	-
试剂一 (μL)	200	200	-	-
试剂二 (μL)	100		-	-
充分混匀后, 37°C水浴/恒温培养箱中反应24h, 期间振荡5-6 次, 使土样与反应液充分接触。			-	-
试剂三 (μL)	200	200	-	-
试剂二 (μL)	-	100	-	-
混匀, 10000rpm 室温离心10min, 取上清液待测			-	-
上清液 (μL)	220	220	-	-
0.2μmol/mL标准液 (μL)	-	-	220	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	220
试剂四 (μL)	650	650	650	650
试剂五 (μL)	130	130	130	130
混匀, 40°C水浴或恒温培养箱培养 10min, 10000rpm 室温离心 10min, 取上清液于 680nm 下读取各管吸光值 A, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。(标准管、空白管只需测 1-2 次, 每个测定管需设一个对照管)				

三、土壤酸性蛋白酶活性计算

单位定义: 每天每g土样中产生1μmol的酪氨酸为一个土壤酸性蛋白酶活力单位。

土壤酸性蛋白酶(U/g 土样)= $C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.1 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

C标准: 标准管浓度, 0.2μmol/mL; V反应: 反应体系总体积, 0.5mL; T: 反应时间, 1d; W: 样本质量, g。

注意事项:

当吸光值大于1时, 建议将上清液用蒸馏水稀释后进行测定, 计算时注意乘以稀释倍数。

实验实例:

- 1、分别称取 2 份 0.1g 土样于 1.5mLEP 管中, 分别为对照管及测定管。按照测定步骤操作, 使用 1mL 玻璃比色皿测定吸光度, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.206 - 0.178 = 0.028$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.540 - 0.028 = 0.512$, 按土壤质量计算酶活得:

土壤酸性蛋白酶(U/g 土样)= $0.1 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.1 \times 0.028 \div 0.512 \div 0.1 = 0.0547 \text{ U/g 土样}$ 。

- 2、分别称取 2 份 0.1g 三叶草土样于 1.5mLEP 管中, 分别为对照管及测定管。按照测定步骤操作, 使用 1mL 玻璃比色皿测定吸光度, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.831 - 0.612 = 0.219$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.540 - 0.028 = 0.512$, 按土壤质量计算酶活得:

土壤酸性蛋白酶(U/g 土样)= $0.1 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.1 \times 0.219 \div 0.512 \div 0.1 = 0.0313 \text{ U/g 土样}$ 。

相关发表文献:

- [1] Guan TK, Wang QY, Li JS, Yan HW, Chen QJ, Sun J, Liu CJ, Han YY, Zou YJ, Zhang GQ. Biochar immobilized plant growth-promoting rhizobacteria enhanced the physicochemical properties, agronomic characters and microbial



communities during lettuce seedling. Front Microbiol. 2023 Jul 5;14:1218205. doi: 10.3389/fmicb.2023.1218205. PMID: 37476665; PMCID: PMC10354297.

相关系列产品:

- BC0270/BC0275 土壤中性蛋白酶活性检测试剂盒
BC0880/BC0885 土壤碱性蛋白酶（S-ALPT）活性检测试剂盒

