

土壤酸性蛋白酶活性检测试剂盒说明书

微量法

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：BC0865

规格：100T/48S

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。

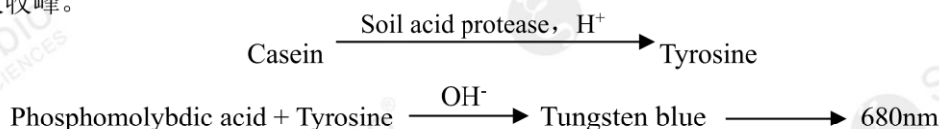
试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 12 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂六	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

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/酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96孔板、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/酶标仪预热30min以上，调节波长至680nm，分光光度计用蒸馏水调零。
- 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44μL，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）	0.05	0.05	-	-
试剂一（μL）	100	100	-	-
试剂二（μL）	50	-	-	-
充分混匀后，37℃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）	100	100	-	-
试剂二（μL）	-	50	-	-
混匀，10000rpm 室温离心10min，取上清液待测。			-	-
上清液（μL）	44	44	-	-
0.2μmol/mL标准液（μL）	-	-	44	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	44
试剂四（μL）	130	130	130	130
试剂五（μL）	26	26	26	26
混匀，40℃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 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管，ΔA 标准=A 标准管-A 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标准×ΔA测定÷ΔA标准×V反总÷W÷T=0.05×ΔA测定÷ΔA标准÷W

C标准：标准管浓度，0.2μmol/mL；V反总：反应体系总体积，0.25mL；T：反应时间，1d；W：样本质量，g。

注意事项：

当吸光值大于1.5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 0.05g 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，用 96 孔板测定吸光值，计算 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管=0.189-0.178=0.016，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管=0.374-0.045=0.329，按土壤质量计算酶活得：

土壤酸性蛋白酶(U/g 土样)=0.05×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W=0.05×0.016÷0.329÷0.05=0.0486 U/g 土样。

2、分别称取 2 份 0.05g 森林土于 1.5mLEP 管中，分别为对照管及测定管。按照测定步骤操作，用 96 孔板测定吸光值，计算 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管=0.831-0.612=0.219，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管=0.374-0.045=0.329，按土壤质量计算酶活得：

土壤酸性蛋白酶(U/g 土样)=0.05×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W=0.05×0.219÷0.329÷0.05=0.6657 U/g 土样。

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



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.