

## 土壤酸性蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1341

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

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，酪氨酸还原磷钼酸化合物生成钨蓝，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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体20mL×1瓶	4°C
试剂二	粉剂×1瓶	4°C
试剂三	粉剂×1瓶	4°C
试剂四	液体20mL×1瓶	4°C
试剂五	液体5mL×1瓶	4°C
标准品	液体1mL×1支	4°C

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入10mL试剂一，沸水浴搅拌溶解后待用；
2. 试剂三：临用前加入10mL蒸馏水充分溶解待用。
3. 标准品：20 $\mu$ mol/mL酪氨酸溶液。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96孔板、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°C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，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：将20 $\mu$ mol/mL酪氨酸标准液用蒸馏水稀释100倍至0.2 $\mu$ mol/mL使用，现用现配。
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（ $\mu$ L）	50	50	-	-
试剂二（ $\mu$ L）	100		-	-
混匀后，37°C反应24h，期间振荡5-6次，使土样与反应液充分接触。			-	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
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

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂三 (μL)	100	100	-	-
试剂二 (μL)	-	100	-	-
混匀, 10000rpm室温离心10min, 取上清液。			-	-
上清液 (μL)	44	44	-	-
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°C水浴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 $\Delta A$ 测定=A测定管-A对照管, $\Delta A$ 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 1 $\mu$ mol 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 $\times$  $\Delta A$  测定 $\div$  $\Delta A$  标准 $\times V$  反总 $\div W$  $\div T=0.05 \times \Delta A$  测定 $\div \Delta A$  标准 $\div W$

C 标准: 标准管浓度, 0.2 $\mu$ mol/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 孔板测得计算  $\Delta A$  测定=A 测定管-A 对照管=0.189-0.178=0.016,  $\Delta A$  标准=A 标准管-A 空白管=0.374-0.045=0.329, 按土壤重量计算酶活得:  
土壤酸性蛋白酶(U/g 土样)=0.05 $\times \Delta A$  测定 $\div \Delta A$  标准 $\div W=0.05 \times 0.016 \div 0.329 \div 0.05=0.0486$ U/g 土样。
2. 分别取 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 孔板测得计算  $\Delta A$  测定=A 测定管-A 对照管=0.831-0.612=0.219,  $\Delta A$  标准=A 标准管-A 空白管=0.374-0.045=0.329, 按土壤重量计算酶活得:  
土壤酸性蛋白酶(U/g 土样)=0.05 $\times \Delta A$  测定 $\div \Delta A$  标准 $\div W=0.05 \times 0.219 \div 0.329 \div 0.05=0.6657$  U/g 土样。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 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

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com