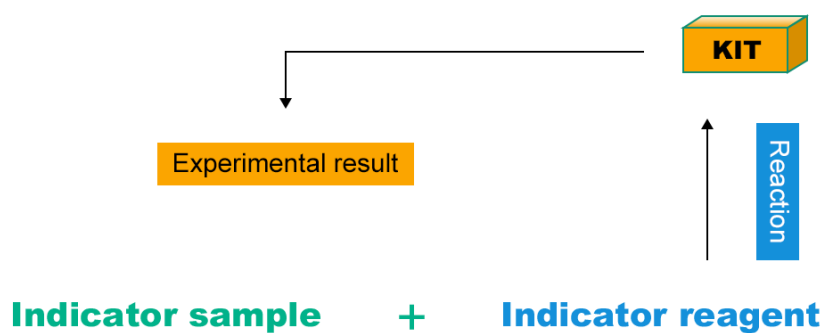


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0550

Size: 100T/48S

土壤酸性蛋白酶检测试剂盒说明书

微量法

***正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定**

一、测定意义：

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。S-ACPT 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。

二、测定原理：

酸性条件下，S-ACPT 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。

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、微量石英比色皿/96 孔板、双蒸水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 5mL 蒸馏水充分溶解待用
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 50uL 试剂七使粉剂润湿，然后加入 10mL 试剂一，转入烧杯中沸水浴磁力搅拌溶解后待用；
试剂四	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 50mL 蒸馏水充分溶解待用
试剂五	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂六	液体 1.5mL×1 支	4℃保存	0.05mg/mL 标准酪氨酸溶液
试剂七	液体 1.5mL×1 支	4℃保存	

五、操作步骤：

● 测定操作：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 680nm，蒸馏水调零。
2. 试剂二、三和四 40℃水浴 10min。
3. 样本测定：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.01	0.01
试剂一 (μL)	50	150
试剂三 (μL)	100	
混匀，40℃水浴 30min，振荡 5-6 次，使土样与反应液充分接触		
试剂二 (μL)	100	100

混匀，8000rpm 25℃离心 10min，取上清液，在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂			
	测定管	对照管	标准管
上清液（μL）	30	30	
试剂六（μL）			30
试剂四（μL）	140	140	140
试剂五（μL）	30	30	30
混匀，40℃水浴 20min，680nm 下读取各管吸光值 A			

注意：标准管只需测一次。每个测定管设一个对照管。

七、S-ACPT 活性计算：

单位定义：每天每 g 土样中产生 1mg 酪氨酸为一个 S-ACPT 活力单位。

$S-ACPT(U/g) = C \text{ 标准} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div A \text{ 标准管} \times V \text{ 反总} \div W \div T$

$T = 48 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div A \text{ 标准管}$

C 标准管：标准管浓度，0.05mg/mL；V 反总：反应体系总体积，0.2mL；T：反应时间，30min=1/48d；W：样本质量，0.01g。