

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-S0551

Size: 100T/48S

土壤中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。土壤中性蛋白酶在中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：

中性条件下，土壤中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。

三、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、微量比色皿/96 孔板、蒸馏水、50 目筛（或更小）。

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 20mL × 1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉剂 × 1 瓶	4℃ 保存	临用前加入 10mL 试剂一，沸水浴搅拌溶解后待用
试剂三	粉剂 × 1 瓶	4℃ 保存	临用前加入 10mL 蒸馏水充分溶解待用
试剂四	液体 20mL × 1 瓶	4℃ 保存	
试剂五	液体 5mL × 1 瓶	4℃ 保存	
标准品	液体 1mL × 1 支	4℃ 保存	0.25 μmol/mL 酪氨酸溶液

五、样品处理：

新鲜土样自然风干或 37℃ 烘箱风干，过 30~50 目筛。

六、操作步骤：

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. 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)	50	50	—	—
试剂二 (μL)	100		—	—
混匀后，37℃ 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)	—	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。				

注意: 标准管、空白管只需测一次。每个测定管设一个对照管。

七、土壤中性蛋白酶活性计算:

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

土壤中性蛋白酶(U/g)=C 标准×ΔA 测定÷ΔA 标准×V 反总÷W÷T

=0.0625×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W。

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

八、注意事项:

当吸光值大于 1.5 时, 建议将上清液稀释后进行测定, 计算时注意乘以稀释倍数。