

土壤中性蛋白酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1309

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。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。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℃
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
试剂三	粉剂×1瓶	4℃
试剂四	液体20mL×1瓶	4℃
试剂五	液体5mL×1瓶	4℃
标准液	液体1mL×1支	4℃

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. 标准液：20μmol/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、恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、蒸馏水、研钵、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，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：将20μmol/mL酪氨酸标准液用蒸馏水稀释100倍至0.2μmol/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（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。			-	-



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.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℃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、土壤中性蛋白酶活性计算

单位定义: 每天每g土样中产生1μmol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土样)=C标准管× $\Delta A_{测定}$ ÷ $\Delta A_{标准}$ ×V反总÷W÷T=0.05× $\Delta A_{测定}$ ÷ $\Delta A_{标准}$ ÷W

C标准管: 标准管浓度, 0.2μmol/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。

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 森林土样于 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 $\Delta A_{测定}=A_{测定管}-A_{对照管}=0.582-0.355=0.227$, $\Delta A_{标准}=A_{标准管}-A_{空白管}=0.374-0.045=0.329$, 按土壤质量计算酶活得:

土壤中性蛋白酶(U/g 土样)= $0.05 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 0.05 \times 0.227 \div 0.329 \div 0.05 = 0.69$ U/g 土样。

2. 分别取 2 份 0.05g 三叶草土于 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 $\Delta A_{测定}=A_{测定管}-A_{对照管}=0.23-0.177=0.053$, $\Delta A_{标准}=A_{标准管}-A_{空白管}=0.374-0.045=0.329$, 按土壤质量计算酶活得:

土壤中性蛋白酶(U/g 土样)= $0.05 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 0.05 \times 0.053 \div 0.329 \div 0.05 = 0.1611$ U/g 土样。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com