

土壤碱性蛋白酶（S-ALPT）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1366

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。土壤碱性蛋白酶在碱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。碱性条件下，土壤碱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℃
试剂二	粉剂×2瓶	4℃
试剂三	液体12mL×1瓶	4℃
试剂四	液体20mL×1瓶	4℃
试剂五	液体5mL×1瓶	4℃
标准品	液体1mL×1支	4℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取1瓶加入6mL试剂一，沸水浴搅拌溶解后待用，用不完的试剂可以2-8℃保存4周；
2. 标准品：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/恒温培养箱、台式离心机、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）	50	50	-	-
试剂二（μL）	100	-	-	-
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。			-	-



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

试剂三 (μL)	100	100	-	-
试剂二 (μL)	-	100	-	-
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 $\Delta A_{测定}=A_{测定管}-A_{对照管}$, $\Delta A_{标准}=A_{标准管}-A_{空白管}$ 。(标准管、空白管只需测1-2次, 每个测定管需设一个对照管)				

三、土壤碱性蛋白酶活性计算

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

土壤碱性蛋白酶(U/g 土样)=C 标准× $\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{反应} \div W \div T = 0.05 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times W$

C 标准: 标准管浓度, 0.2μmol/mL; V 反应: 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 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 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}=0.234-0.180=0.054$, $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.374-0.045=0.329$, 按土壤质量计算酶活得: 土壤碱性蛋白酶(U/g 土样)= $0.05 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times W = 0.05 \times 0.054 \div 0.329 \times 0.05 = 0.1641$ U/g 土样。
2. 分别取 0.05g 森林 10 号土样于 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 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}=0.829-0.566=0.263$, $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.374-0.045=0.329$, 按土壤质量计算酶活得: 土壤碱性蛋白酶(U/g 土样)= $0.05 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times W = 0.05 \times 0.263 \div 0.329 \times 0.05 = 0.7994$ 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