

土壤碱性蛋白酶 (S-ACPr)测试盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|-------------|------|------|
| SMHA8-C24 | 土壤酸性蛋白酶 | 24T | 常量法 |
| SMHA8-C48 | (S-ACPr)试剂盒 | 48T | |

一、测定意义：

土壤蛋白酶是土壤中的一种重要的酶类，它能水解各种蛋白质以及肽类等化合物为氨基酸，是高等植物的氮源之一。土壤蛋白酶由于微生物活动、植物根系分泌和动植物残体的分解而富集起来，成为土壤中的一种重要胞外酶，具有离体活性，能够参与土壤的氮素循环，是促进土壤氮循环的重要成分。

二、测定原理：

在酸性条件下，土壤酸性蛋白酶可催化底物水解生成酪氨酸，酪氨酸还原磷钼酸化合物生成钨蓝，在 680nm 有特征吸收峰，根据颜色深浅可测定土壤中酸性蛋白酶活性。

三、试剂盒组成：

| 试剂名称 | 试剂装量 (24T) | 试剂装量 (48T) | 保存条件 |
|---|------------|------------|--------|
| 试剂一 | 20mL×1 瓶 | 30mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二应用液的配制：每瓶粉剂加入 10mL 试剂一，沸水浴搅拌充分溶解后待用。 | | | |
| 试剂三 | 15mL×1 瓶 | 30mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂四 | 50mL×1 瓶 | 100mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂五 | 10mL×1 瓶 | 20mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 标准品 (10μmol/mL) | 1.5mL×1 支 | 1.5mL×1 支 | 2-8℃保存 |

四、操作步骤：

样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

操作步骤

1、培养反应（将试剂依次加入离心管中）：

| | 测定管 | 对照管 | 基质管 |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|
| 土样 (g) | 0.1 | 0.1 | |
| 试剂一 (μL) | 100 | 100 | 100 |
| 蒸馏水 (μL) | - | 200 | |
| 试剂二 (μL) | 200 | - | 200 |
| 混匀，37℃孵育 24h | | | |
| 试剂三 (μL) | 200 | 200 | 200 |
| 混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。 | | | |

2、显色反应（将试剂依次加入离心管中）：

| | 测定管 | 对照管 | 基质管 | 标准管 |
|----------|-----|-----|-----|-----|
| 上清液 (μL) | 150 | 150 | 150 | - |
| 标准品 (μL) | - | - | - | 150 |
| 试剂四 (μL) | 750 | 750 | 750 | 750 |
| 试剂五 (μL) | 150 | 150 | 150 | 150 |

混匀，40℃水浴 20min，10000rpm 室温离心 10min，蒸馏水调零，于波长 680nm 处，分光光度计测定各管吸光度值。

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管，基质管只需要做一管；

五、单位定义与计算：

单位定义：每天每克风干土壤中生成 1μmol 的酪氨酸为一个酶活力单位。

计算公式：根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y (μmol/mL)

$$S-ACPr(U/g \text{ 土样}) = (Y_{\text{测定}} - Y_{\text{对照}} - Y_{\text{基质}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

T：反应时间，1d； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.5mL；W：样本质量，0.1g。

六、注意事项：

1、比色时，溶液呈现蓝色，在 1h 内保持稳定

2、不同土壤样本的酸性蛋白酶差异较大，先做预实验确认样本稀释倍数。通常情况下测定管需要 1-5 倍稀释，对照管和基质管不稀释。

附录 I：酸性蛋白酶标准曲线的制备

1、前处理：

将 10 μ mol/mL 的标准品用蒸馏水稀释成 0、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 μ mol/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

| 标准品浓度 (μ mol/mL) | 0 | 0.02 | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.5 | 1.0 |
|--------------------------|-----|------|------|-----|-----|-----|-----|
| 标准品 (μ L) | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| 试剂四 (μ L) | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 |
| 试剂五 (μ L) | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |

混匀，40℃水浴 20min，10000rpm 室温离心 10min，蒸馏水调零，于波长 680nm 处，分光光度计测定各管吸光度值。

3、测定结果：

| 标准品浓度 (μ mol/mL) | 吸光度值 | 绝对吸光度值 |
|--------------------------|-------|--------|
| 0.00 | 0.002 | 0.000 |
| 0.02 | 0.042 | 0.040 |
| 0.05 | 0.101 | 0.099 |
| 0.10 | 0.179 | 0.177 |
| 0.20 | 0.334 | 0.332 |
| 0.50 | 0.810 | 0.808 |

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日

