

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×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：20 μ mol/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20 μ mol/mL酪氨酸标准液用蒸馏水稀释100倍至0.2 μ mol/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（ μ L）	50	50	-	-
试剂二（ μ L）	100		-	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

混匀后，37°C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ΔA测定=A测定管-A对照管，ΔA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×ΔA测定÷ΔA标准×V反总÷W÷T=0.05×ΔA测定÷ΔA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ΔA测定=A测定管-A对照管=0.582-0.355=0.227，ΔA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×ΔA测定÷ΔA标准÷W=0.05×0.227÷0.329÷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孔板测得计算ΔA测定=A测定管-A对照管=0.23-0.177=0.053，ΔA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×ΔA测定÷ΔA标准÷W=0.05×0.053÷0.329÷0.05=0.1611 U/g土样。

相关发表文献：

- [1] Manyun Zhang, Jun Wang, Shahla Hosseini Bai, et al. Evaluating the effects of phytoremediation with biochar additions on soil nitrogen mineralization enzymes and fungi. Environmental Science and Pollution Research. May 2018;(IF2.914)
- [2] Zhang M, Wang W, Wang J, et al. Dynamics of biochemical properties associated with soil nitrogen mineralization following nitrification inhibitor and fungicide applications[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(12): 11340-11348.



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com