

## 土壤酸性蛋白酶 (Solid -Acid Protease, S-ACPT) 试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 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。S-ACPT 在酸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。

### 测定原理：

酸性条件下，S-ACPT 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。

### 试剂组成和配置：

产品名称	SSQ016-100T/48S	Storage
试剂一：液体一	1ml	4°C
试剂一：液体二	0.5ml	4°C
试剂二：粉剂	1 瓶	4°C
试剂三：粉剂	1 瓶	4°C
试剂四：粉剂	1 瓶	4°C
试剂五：液体	8ml	4°C
试剂六：液体	1.5ml	4°C
试剂七：液体	5ml	4°C
说明书	一份	

试剂一的配制：临用前按液体一：液体二：蒸馏水=140 (μl) : 20 (μl) : 21 (ml) 的比例配制，现配现用，如出现白色絮状沉淀则不能用。

试剂二：粉剂×1 瓶，4°C保存；临用前加入 6ml 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂 4°C保存；

试剂三：粉剂×1 瓶，4°C保存；临用前加入 2ml 试剂七，沸水浴加热溶解，然后加入 8ml；

试剂四：粉剂×1 瓶，4°C保存；临用前加入 30ml 蒸馏水充分溶解待用；用不完的试剂 4°C保存；

试剂六：液体 1.5ml×1 支，0.05mg/ml 标准酪氨酸溶液，4°C保存。

### 自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪、微量石英比色皿/96 孔板、双蒸水。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司，保留一切权利



**样品处理：**

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

**测定步骤：**

- 1、试剂一的配制：见试剂的组成和配制。
- 2、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 680nm，蒸馏水调零。
- 3、样本测定：

试剂名称	测定管	对照管	
风干土样 (g)	0.02	0.02	
试剂一 (μl)		150	
试剂三 (μl)	150		
混匀，40°C水浴 30min，振荡 5-6 次，使土样与反应液充分接触			
试剂二 (μl)	50	50	
混匀，8000g25°C离心 10min，取上清液，在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂			
	测定管	对照管	标准管
上清液 (μl)	60	60	
试剂六 (μl)			60
试剂四 (μl)	280	280	280
试剂五 (μl)	60	60	60

混匀，40°C水浴 20min，8000g 25°C离心 10min，取上清液 200μl，680nm 下读取各管吸光值 A

**注意事项**

标准管只需测一次。每个测定管设一个对照管。

**S-ACPT 活性计算：**

单位定义：每天每 g 土样中产生 1mg 酪氨酸为一个 S-ACPT 活力单位。

$S-ACPT(mg/d/g \text{ 土样}) = C \text{ 标准} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div A \text{ 标准管} \times V \text{ 反总} \div W \div T = 24 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div A \text{ 标准管}$

C 标准管：标准管浓度，0.05mg/ml；V 反总：反应体系总体积，0.2ml；T：反应时间，30min=1/48d；W：样本质量，0.02g。

