# Soil-Acid Protease (S-ACPT) Activity Assay Kit

# 土壤酸性蛋白酶（S-ACPT）试剂盒说明书

货号：BN72554| 方法：可见分光法 | 规格：24 样

## 一、产品简介：

蛋白酶是广泛存在于土壤中的一大酶类，它能水解各种蛋白质以及肽类等化合物为氨基酸，因此土壤蛋白酶的活性与土壤中氮素的转化状况有极其重要的关系。

土壤酸性蛋白酶（S-ACPT）在酸性条件下将酪蛋白水解产生酪氨酸；酪氨酸与福林酚在碱性条件下反应生成蓝色化合物；该蓝色物质在 680nm 有特征吸收峰，进而得 S-ACPT酶活，由于底物酪蛋白自身含有多种氨基酸，所以在检测过程中必须设置带有底物酪蛋白的对照，以扣除有干扰的背景值，排除假阳性。

## 二、测试盒组成和配制：

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|---|---|---|---|
| 试剂一 | 液体 120mL×1 瓶 | 4℃保存 | |
| 试剂二 | 粉剂 mg×2 瓶 | 4℃保存 | 临用前甩几下使粉剂落入底部，每瓶加入 3mL 试剂三 90℃加热搅拌至分散（约 10-20min），再加 27mL 试剂一搅拌至溶解（约需 30min）；配置完的试剂 4℃保存，三天内用完。 |
| 试剂三 | 液体 10mL×1 瓶 | 4℃保存 | 用前摇匀。 |
| 试剂四 | 液体 30mL×1 瓶 | 4℃保存 | 用前摇匀。 |
| 试剂五 | 液体 20mL×1 瓶 | 4℃保存 | 用前摇匀。 |
| 试剂六 | 液体 5mL×1 棕色瓶 | 4℃保存 | 现用现配，临用前加 10mL 蒸馏水，4℃保存，一星期内用完。 |
| 标准品 | 粉体 mg×1 支 EP | 4℃保存 | 若重新做标曲，则用到该试剂。 |

【注】：试剂二若在磁力搅拌器（带温控）上溶解，可用锡箔纸或保鲜膜盖住烧杯，以免溶解过程中水分蒸发过快。

## 三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、磁力搅拌器、可调式移液枪

## 四、土壤酸性蛋白酶（S-ACPT）活性测定：

**建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！**

### 1、样本制备：

取新鲜土样或者 37 度烘箱风干（需先粗研磨），过 40 目筛网备用。

### 2、上机检测：

① 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 680nm，蒸馏水调零。

② 配制好的试剂二需预先 50℃水浴 10min。

③ 在 EP 管中依次加入下列试剂培养：

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 对照管 |
|---|---|---|
| 土样（g） | 0.2g 鲜土<br>或 0.1g 干土 | 0.2g 鲜土<br>或 0.1g 干土 |
| 试剂一 | 500 | 500 |
| 试剂二 | 500 | |

| | | |
|---|---|---|
| 50℃振荡培养 2h，同时，余下的试剂二须单独 50℃振荡培养 2h | | |
| 上步单独 50℃培养过的试剂二 | | 500 |
| 试剂四 | 500 | 500 |
| 混匀，立即 1700rpm（须准确），4℃离心 10min，上清液待用 | | |

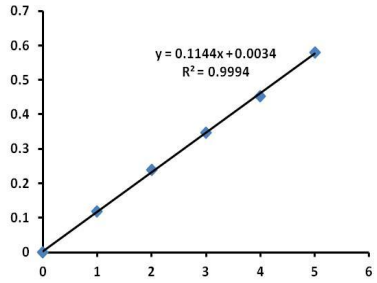
④ 显色反应：在 EP 管中依次加入：

| | | |
|---|---|---|
| 上清液 | 250 | 250 |
| 试剂五 | 375 | 375 |
| 试剂六 | 250 | 250 |
| 室温静置 20min（若仍浑浊，可以延长静置时间至 30min 或 1700rpm 离心 10min），取全部上清液于 1mL 玻璃比色皿中，于 680nm 读取吸光值 A，△A=A 测定管-A 对照管。 | | |

**注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。**

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程：y = 0.1144x + 0.0034，x 是标准品质量（μg），y 是ΔA。




标准曲线示意图

**说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。**

2、单位定义：每小时每克鲜土中产生 1μg 酪氨酸为一个酶活力单位。

土壤酸性蛋白酶(S-ACPT) (μg/h/g 鲜土)=(ΔA-0.0034)÷0.1144÷(W1×V1÷V2)÷T

=26.2×(ΔA -0.0034) ÷W1

3、单位定义：每小时每克干土中产生 1μg 酪氨酸为一个酶活力单位。

同等质量的鲜土（参与实际反应的鲜土质量）在 105℃烘干，即得相应的干土质量。

土壤酸性蛋白酶(S-ACPT) (μg/h/g 干土)=(ΔA -0.0034)÷0.1144÷(W2×V1÷V2)÷T

=26.2×(ΔA -0.0034) ÷W2

V1---显色反应步骤中加入的上清液体积，250μL =0.25mL；

V2---培养步骤中总的反应体积，1500μL =1.5mL；

T---反应时间，2h；

W1---样本质量，以实际称取鲜土质量为准；

W2---相对应的干土质量。