

# 土壤亮氨酸氨基肽酶测试盒说明书

| 产品货号      | 产品名称                | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|---------------------|------|------|
| SMHB9-C24 | 土壤亮氨酸氨基肽酶(S-LAP)试剂盒 | 24T  | 常量法  |
| SMHB9-C48 |                     | 48T  |      |

## 一、测定意义：

土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）能水解肽链 N-末端由亮氨酸与其他氨基酸形成肽键，参与组织蛋白和肽类的降解更新，其活性与土壤微生物数量、有机物质含量、全氮和速效磷含量呈正相关，可以反映土壤有机氮及其转化状况，并可作为判断土壤肥力和氮素营养水平的一个重要指标。

## 二、测定原理：

以 L-亮氨酸对硝基苯胺为底物，土壤亮氨酸氨基肽酶催化底物生成对硝基苯胺，其产物显黄色，在 405nm 有特征吸收峰。通过其吸光度值的变化来计算土壤亮氨酸氨基肽酶的活性。

## 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  | 4mL×1 瓶   | 8mL×1 瓶   | 2-8℃ 保存 |
| 试剂二  | 50mL×1 瓶  | 90mL×1 瓶  | 2-8℃ 保存 |
| 试剂三  | 6mL×1 瓶   | 12mL×1 瓶  | 2-8℃ 保存 |

## 四、操作步骤：

### 一、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。

### 二、操作步骤

#### 1、培养反应：

|              | 测定管 | 对照管 |
|--------------|-----|-----|
| 土样（g）        | 0.1 | 0.1 |
| 试剂一（μL）      | 100 | -   |
| 蒸馏水（μL）      | -   | 100 |
| 试剂二应用液（μL）   | 800 | 800 |
| 混匀，37℃ 孵育 1h |     |     |
| 试剂三（μL）      | 100 | 100 |

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，波长 405nm，1cm 光径，蒸馏水调零，

测定各管吸光度值。  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

## 五、单位定义与计算：

**单位定义：**每克风干土样每小时生成 1 nmol 对-硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**

$$\text{S-LAP (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d) \div W \div T = 101.32 \times \Delta A \div W$$

**V<sub>反应</sub>：**提取液体积，1mL=10<sup>-3</sup>L；

**ε：**对-硝基苯胺摩尔消光系数，9.87×10<sup>3</sup> L/mol/cm；

**d：**比色皿光径，1 cm；

**T：**反应时间，1h；

**10<sup>9</sup>：**单位换算系数，1 mol=10<sup>9</sup> nmol

**W：**样本质量，g。

## 六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的亮氨酸氨基肽酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。