

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_{反应}：提取液体积，1mL=10⁻³L；

ε：对-硝基苯胺摩尔消光系数，9.87×10³ L/mol/cm；

d：比色皿光径，1 cm；

T：反应时间， 1h；

10⁹：单位换算系数，1 mol=10⁹ 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。