土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）活性检测试剂盒说明书

规格：50 管/24 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测。

2.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	18 mL×1	4℃	
试剂二	粉剂×1	4℃	临用前需加入 9 mL 的试剂一充分溶解，溶液较为难溶，可 60℃水浴加热或 37℃超声溶解，然后 25℃水浴 10 min 后开始测定，用不完的试剂分装后-20℃保存，避免反复冻融。
标准品	粉剂×1	4℃	1 mg 标准品，临用前加入 1 mL 超纯水溶解得到 1 mg/mL 的标准溶液。若重新做标曲则用到该试剂，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱

四、样品制备

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 60 目筛备用。

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 405 nm 处。

2.在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样（g）	0.05	0.05

试剂一（μL）	-	300
试剂二（μL）	300	-
混匀，37℃振荡反应 1h 或静置培养，若静置培养需每隔 20 min利用漩涡混匀仪混匀 3~4 秒，每次混匀后尽量避免液体粘在管壁。培养结束后，10000g，4℃离心 5 min，取 200 μL 上清液于 96 孔板中，405 nm 处测定吸光值 A，记作 A 测定管、A 对照管，计算ΔA 测定=A 测定管-A 对照管（每个测定管需设置一个对照管）。		

六、计算

1.标准方程

标准条件下测得回归方程为 y＝169.52x-6.1633，R^2=0.9998，y 为标准品浓度（μmol/mL），x 为吸光值。

2.单位定义

每天每克土样中产生 1 μmol 的硝基苯胺定义为一个酶活力单位 U。

土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）活性（μmol/g/d 土样）=ΔA×V÷W÷T

=(169.52×ΔA-6.1633)×3×10^{-4}×24÷W=0.0072×(169.52×ΔA-6.1633)÷W

ΔA=A 测定管-A 对照管；V：反应体系总体积，3×10^{-4}L；W：样本重量，0.05 g；

T：反应时间：1h＝1/24 h.

七、产品简介

土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）主要存在于土壤中的各种微生物体内，是土壤生物造土作用中起着非常重要的作用，能够促进土壤有机质分解和养分循环，从而提高土壤肥力，增进农作物产量。该酶催化多肽水解成氨基酸，是氮解聚和下游矿化的关键步骤。