

土壤中性蛋白酶 (S-NPr) 测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHA9-C24	土壤中性蛋白酶 (S-NPr)试剂盒	24T	常量法
SMHA9-C48		48T	

一、测定意义：

土壤蛋白酶是土壤中的一种重要的酶类，它能水解各种蛋白质以及肽类等化合物为氨基酸，是高等植物的氮源之一。土壤蛋白酶由于微生物活动、植物根系分泌和动植物残体的分解而富集起来，成为土壤中的一种重要胞外酶，具有离体活性，能够参与土壤的氮素循环，是促进土壤氮循环的重要成分。

二、测定原理：

在中性条件下，土壤中性蛋白酶可催化底物水解生成酪氨酸，酪氨酸还原磷钼酸化合物生成钨蓝，在 680nm 有特征吸收峰，根据颜色深浅可测定土壤中中性蛋白酶活性。

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	20mL×1 瓶	30mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C 保存
试剂二应用液的配制：每瓶粉剂加入 10mL 试剂一，沸水浴搅拌充分溶解后待用。			
试剂三	15mL×1 瓶	30mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂四	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂五	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	2-8°C 保存
标准品 (10μmol/mL)	1.5mL×1 支	1.5mL×1 支	2-8°C 保存

四、操作步骤：

样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37°C 烘箱风干，过 30-50 目筛。

操作步骤

1、培养反应（将试剂依次加入离心管中）：

试剂名称	测定管	对照管	基质管
土样 (g)	0.1	0.1	
试剂一 (μL)	100	100	100
蒸馏水 (μL)	-	200	
试剂二 (μL)	200	-	200
混匀，37°C 孵育 24h			
试剂三 (μL)	200	200	200
混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。			

2、显色反应（将试剂依次加入离心管中）：

试剂名称	测定管	对照管	基质管	标准管
上清液 (μL)	150	150	150	-
标准品 (μL)	-	-	-	150
试剂四 (μL)	750	750	750	750
试剂五 (μL)	150	150	150	150
混匀，40°C 水浴 20min，10000rpm 室温离心 10min，蒸馏水调零，于波长 680nm 处，分光光度计测定各管吸光度值。				
注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管，基质管只需要做一管；				

五、单位定义与计算：

单位定义：每天每克风干土壤中生成 1μmol 的酪氨酸为一个酶活力单位。

计算公式：根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y (μmol/mL)。

$$S\text{-NPr}(U/g \text{ 土样}) = (Y_{\text{测定}} - Y_{\text{对照}} - Y_{\text{基质}}) \times V_{\text{反总}} \div W \div T$$

T：反应时间，1d；V_{反总}：反应体系总体积，0.5mL；W：样本质量，0.1g。

六、注意事项：

1、比色时，溶液呈现蓝色，在 1h 内保持稳定

2、不同土壤样本的中性蛋白酶差异较大，先做预实验确认样本稀释倍数。通常情况下测定管需要 1-5 倍稀释，对照管和基质管不稀释。

附录 I：中性蛋白酶标准曲线的制备

1、前处理：

将 $10\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的标准品用蒸馏水稀释成 0 、 0.02 、 0.05 、 0.1 、 0.2 、 $0.5\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准液进行标准曲线的制备。

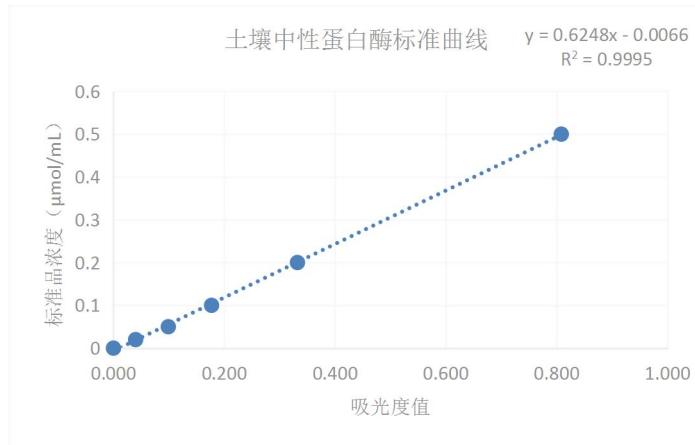
2、操作表：

标准品浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)	0	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0
标准品 (μL)	150	150	150	150	150	150	150
试剂四 (μL)	750	750	750	750	750	750	750
试剂五 (μL)	150	150	150	150	150	150	150

混匀， 40°C 水浴 20min ， 10000rpm 室温离心 10min ，蒸馏水调零，于波长 680nm 处，分光光度计测定各管吸光度值。

3、测定结果：

标准品浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)	吸光度值	绝对吸光度值
0.00	0.002	0.000
0.02	0.042	0.040
0.05	0.101	0.099
0.10	0.179	0.177
0.20	0.334	0.332
0.50	0.810	0.808



【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日