

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	24T	常量法
SMHA9-C48	(S-NPr)试剂盒	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℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃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℃保存
试剂四	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (10μmol/mL)	1.5mL×1 支	1.5mL×1 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

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。

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℃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℃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)。

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

T：反应时间，1d；V_{反应}：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 μ mol/mL 的标准品用蒸馏水稀释成 0、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 μ mol/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

标准品浓度 (μ mol/mL)	0	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0
标准品 (μ L)	150	150	150	150	150	150	150
试剂四 (μ L)	750	750	750	750	750	750	750
试剂五 (μ L)	150	150	150	150	150	150	150

混匀，40℃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 (μ mol/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

