



## 土壤中性蛋白酶（S-NPT）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。
- 3.因试剂二黏度较大，加完试剂一、二后应在漩涡震荡仪上振荡混匀。
- 4.使用前将试剂一、二、三、四 40℃水浴 5 min。

### 二、产品组分

| 试剂名称 | 试剂规格     | 保存条件 | 备注   |
|------|----------|------|--|
| 试剂一  | 11mL×1   | 4℃   |  |
| 试剂二  | 粉剂×1     | 4℃避光 | 使用时加入 0.3 mL 超纯水或蒸馏水与 80 μL 试剂六，沸水浴 15 min，溶解后再加入 2.1 mL 试剂一 |
| 试剂三  | 6.5 mL×1 | 4℃   |  |
| 试剂四  | 15 mL×1  | 4℃   |  |
| 试剂五  | 3.5 mL×1 | 4℃避光 |  |
| 试剂六  | 1 mL     | 4℃   |  |

### 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 680 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） | 0.02 | 0.02 |
| 试剂一（μL） | 100  | 180  |
| 试剂二（μL） | 80   | -    |



混匀后 40°C水浴锅或培养箱培养 30 min，培养期间震荡 5~6 次（在震荡混匀时不宜过于剧烈，否则易造成误差）。培养结束后，在离心管中加入下列试剂

|  |     |     |
|--|-----|-----|
| 试剂三 (μL)   | 120 | 120 |
| 混匀后，10000 g，常温离心 10 min。按下表取上清于 1.5 mL 新离心管中并依次加入试剂四、试剂五   |     |     |
| 上清液 (μL)   | 60  | 60  |
| 试剂四 (μL)   | 280 | 280 |
| 试剂五 (μL)   | 60  | 60  |
| 混匀，40°C水浴 20 min，10000 g，常温离心 5 min。   |     |     |
| 取上清液 200 μL 加入 96 孔板中，680 nm 下读取各管吸光值 A，记为 A 测定管、A 对照管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ （每个测定管需设一个对照管）。 |     |     |

## 六、计算

### 1.单位定义

每天每 g 土样中产生 1 mg 酪氨酸定义为一个酶活力单位 U。

**土壤酸性蛋白酶 (S-NPT) 活性(mg/d/g 土样)** = C 标准 ×  $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div A_{\text{标准}} \div W \div T = 2.01 \times \Delta A \div W$

T: 反应时间, 1/48d; V 反总: 反应体系总体积, 0.30 mL; W: 样本质量, g; A 标准=0.3575; C 标准: 0.05 mg/mL。

## 七、产品简介

土壤中性蛋白酶参与土壤中存在的氨基酸、蛋白质以及其他含蛋白质氮的有机化合物的转化，其水解产物是高等植物的氮源之一，在中性环境下能催化蛋白质水解，与土壤有机质含量、氮素及其他土壤性质有关。