

## 土壤中中性磷酸酶（S-NP）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1295

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

土壤磷酸酶是一类催化土壤有机磷矿化的酶，其活性的高低直接影响着土壤中有机磷的分解转化及其生物有效性，是评价土壤磷素生物转化方向与强度的指标。土壤磷酸酶受到土壤碳、氮含量、有效磷含量和pH显著影响，根据最适pH范围，通常分为酸性、中性和碱性三种类型。

中性环境中，S-NP催化磷酸苯二钠水解生成苯酚和磷酸氢二钠，通过测定酚的生成量即可计算出S-NP活性。

**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体42mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1支	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入100mL蒸馏水充分溶解；
2. 试剂四：临用前加入576 $\mu$ L无水乙醇（自备），24 $\mu$ L蒸馏水充分溶解，（变褐色后不能再使用）；
3. 标准品：0.5 $\mu$ mol/mL苯酚标准液。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、台式离心机、37℃恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、冰、蒸馏水、乙醇和甲苯。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）：

称取风干混匀土壤约0.1g，加入0.05mL甲苯（自备），轻摇15min；加0.4 mL试剂一并且摇匀后，置于37℃恒温培养箱，开始计时，催化反应24h；到时时迅速加入1mL试剂二充分混匀，以终止酶催化的反应。10000rpm室温离心10min，取上清液置于冰上待测。

#### 二、测定步骤：

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到660nm，蒸馏水调零。
2. 空白管：取微量玻璃比色皿/酶标板，加入10 $\mu$ L试剂一，40 $\mu$ L试剂三，4 $\mu$ L试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水146 $\mu$ L，混匀后室温静置30min，于660nm测定吸光度，记为A空白管。
3. 标准管：取微量玻璃比色皿/酶标板，加入10 $\mu$ L标准液，40 $\mu$ L试剂三，4 $\mu$ L试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水146 $\mu$ L，混匀后室温静置30min，于660nm测定吸光度，记为A标准管。
4. 测定管：取微量玻璃比色皿/酶标板，加入10 $\mu$ L上清液，40 $\mu$ L试剂三，4 $\mu$ L试剂四，充分混匀，显色后再加



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

蒸馏水146 $\mu$ L，混匀后室温静置30min，于660nm测定吸光度，记为A测定管。

### 三、S-NP 活性计算：

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C中每克土壤每天释放1nmol酚为1个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NP (nmol/d/g)} &= [\text{C标准液} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times \text{V总} \div \text{W} \div \text{T} \\ &= 725 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{W} \end{aligned}$$

C标准液：0.5 $\mu$ mol/mL；V总：催化体系总体积，1.45mL；W：土壤样品质量，g；T：催化反应时间，24h=1d；1000：单位换算系数，1 $\mu$ mol=1000nmol。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com