

土壤焦磷酸酶(S-PPase)试剂盒（微板法）

产品货号：BA2800

产品规格：48样

产品简介：

土壤焦磷酸酶(焦磷酸盐磷酸水解酶，EC3.6.1.1)催化焦磷酸盐水解成正磷酸盐。在土壤有机磷的矿化和转化中发挥重要作用。

本试剂盒提供一种简单、灵敏、快速的检测方法。土壤焦磷酸酶催化焦磷酸盐水解成磷酸盐。可通过在700nm处测定生成的无机磷量来确定该酶活性大小。

试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×1支	2-8℃	用前甩几下使粉剂落入底部，再加3mL蒸馏水，混匀溶解后备用。
试剂三	液体32mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加2.2mL蒸馏水，混匀溶解后备用。
试剂五	粉剂mg×4支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，每支再加1.5mL蒸馏水，混匀溶解备用，现配现用。
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

【注】：全程操作需无磷环境；试剂配置最好用新的枪头和玻璃移液器等，也可以用一次性塑料器皿，避免磷污染。

所需仪器和用品：

酶标仪、96孔板、式离心机、恒温培养箱、天平、可调式移液器、蒸馏水。

土壤焦磷酸酶活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1. 样本制备：

取新鲜土样或者37度烘箱风干（需先粗研磨），过40目筛网备用。

2. 上机检测：

1) 酶标仪预热30min，调节波长到700nm。

2) 反应mix制备：试剂四和五按照要求加蒸馏水溶解后，按试剂三：四：五=10:2:5的比例依次混合配置(需现配现用，若出现蓝色则需弃掉重新配置)。

3) 在离心管中依次加入下列试剂：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
土样（g）	0.1	0.1
试剂一	370	370
试剂二	30	



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

混匀，37℃振荡培养2小时(间隔30min振荡混匀一次)		
试剂三	200	200
试剂二		30
立即混匀，于12000rpm室温或4℃离心5min，上清液需立即测定，不可久置。		

4) 显色反应，在96孔板中依次加入：

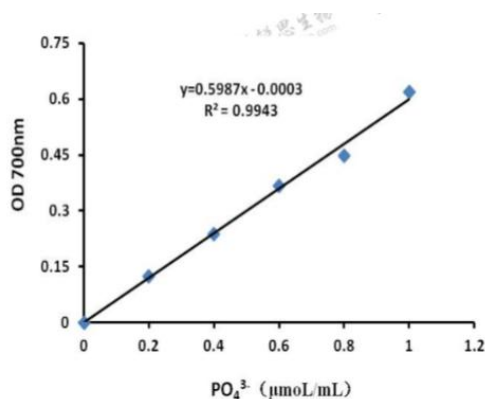
上清液	50	50
反应mix	150	150
混匀，室温静置15min，于700nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (参看注意事项)。		

【注】：1. 若 ΔA 的值在零附近，可延长孵育时间T(如增至5h)。

2.若是同时检测同一背景下的土壤样本(如同一批样本不同时间点的取样)，此批土壤样本可做一个批次的样本自身对照，节省时间。

结果计算：

1. 标准曲线： $y = 0.5987x - 0.0003$ ；x是标准品摩尔浓度($\mu\text{mol/mL}$)，y是 ΔA 。



2. 活性定义：在37℃，每克土壤每小时水解 $1\mu\text{mol}$ 焦磷酸产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷定义为1个酶活单位。

$$\text{土壤焦磷酸酶}(\mu\text{mol/h/g 土样}) = (\Delta A + 0.0003) \div 0.5987 \times V1 \div W \div T$$

$$= 0.5 \times (\Delta A + 0.0003) \div W$$

V1---孵育阶段整个反应体积： $600\mu\text{L} = 0.6\text{mL}$ ；T---催化反应时间，2 h；

W---土壤样品质量，g。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液($50\mu\text{mol/mL}$)：标准品用1mL蒸馏水溶解。(母液需在两天内用)。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0，0.2，0.4，0.6，0.8， $1.0\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据显色反应阶段测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。



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