

土壤焦磷酸酶(S-PPase)试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2799

产品规格：24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660nm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30mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂×1支	2-8℃	使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100mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体5mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	粉剂×1支	2-8℃	
标准品	粉剂×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：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿(光径1cm)、台式离心机、水浴锅或恒温培养箱、天平、可调式移液器。

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) 可见分光光度计预热30min，调节波长到660nm，蒸馏水调零。
- 2) 反应mix制备：于试剂四中加入40mL试剂三，再加入1支试剂五，定容至50mL。
- 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	550	550
试剂二	50	
混匀，37℃振荡培养2小时(间隔30min振荡混匀一次)		
试剂三	300	300
试剂二		50
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。		



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

4) 显色反应, 在EP管或1mL玻璃比色皿中依次加入:

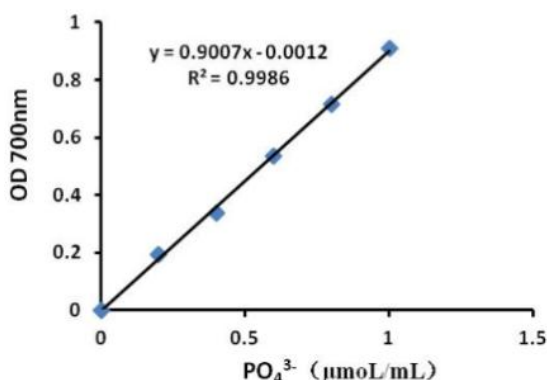
上清液	200	200
反应mix	600	600
混匀, 室温静置15min, 于660nm处读取吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (参看注意事项)。		

【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: $y = 0.9007x - 0.0012$; x是标准品摩尔浓度($\mu\text{mol/mL}$), y是 ΔA 。



2. 活性定义: 37°C, 每克土壤每小时水解1 μmol 焦磷酸产生1 μmol 无机磷定义为1个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤焦磷酸酶}(\mu\text{mol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0012) \div 0.9007 \times V1 \div W \div T \\ &= 0.5 \times (\Delta A + 0.0012) \div W \end{aligned}$$

V1---孵育阶段整个反应体积: 900 μL =0.9mL; 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