

土壤中性磷酸酶 (S-NP) 活性检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0148	土壤中性磷酸酶 (S-NP) 活性检测试剂盒	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 × 1 瓶	4℃, 避光
试剂二	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 100mL 蒸馏水充分溶解后待用。	4℃
试剂三	液体 × 1 瓶	4℃
试剂四	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 576μL 无水乙醇 (自备)、24μL 蒸馏水充分溶解后待用。 (变褐色后不能再使用)	4℃, 避光
标准品	液体 × 1 瓶: 0.5μmol/mL 酚标准溶液。	4℃

一、产品说明

土壤磷酸酶是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。磷酸酶活性受到土壤碳、氮含量、有效磷含量和 pH 的显著影响, 根据最适 PH 范围, 一般把土壤磷酸酶分为中性、酸性和碱性三种类型。

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 NP 活性。

二、自备材料

酶标仪/可见分光光度计、台式离心机、37℃ 恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、96 孔板/1mL 玻璃比色皿、冰、蒸馏水、乙醇、甲苯。

三、样品制备

称取新鲜土壤约 0.1g, 加入 50μL 甲苯 (自备), 混匀 15min; 加 400μL 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。8000g, 25℃ 离心 10min, 取上清液置于冰上待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 660nm, 蒸馏水调零。
- 2、空白管: 取酶标板/微量玻璃比色皿, 加入 10μL 蒸馏水, 20μL 试剂三, 4μL 试剂四, 充分混匀, 显色后再加蒸馏水 166μL, 混匀后 25℃ 静置 30min, 于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 空白管。
- 3、标准管: 取酶标板/微量玻璃比色皿, 加入 10μL 标准液, 20μL 试剂三, 4μL 试剂四, 充分混匀, 显色后再加蒸馏水 166μL, 混匀后 25℃ 静置 30min, 于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 标准管。
- 4、测定管: 取酶标板/微量玻璃比色皿, 加入 10μL 上清液, 20μL 试剂三, 4μL 试剂四, 充

分混匀, 显色后再加蒸馏水 166 μ L, 混匀后 25 $^{\circ}$ C 静置 30min, 于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 测定管。

五、S-NP 活性的计算

单位的定义: 37 $^{\circ}$ C 每天每 g 土壤释放 1nmol 酚定义为一个酶活力单位。

计算公式:

$$\text{S-NP } (\mu\text{mol/d/g 土样}) = [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{W} \div \text{T} = 0.725 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}。$$

C 标准液: 0.5 μ 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, 24 h=1 d。

六、注意事项

- 1、试剂四溶解后颜色变为褐色, 不可继续使用。
- 2、空白管和标准管只需测定一次。