

土壤中性磷酸酶(S-NP)活性检测试剂盒

Soil Neutral Phosphatase Assay Kit

可见分光光度法

货号: AK190

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK190-A	21mL×1 瓶	室温保存;
AK190-B	粉剂×1 瓶	4℃保存; 用前加 50mL 蒸馏水充分溶解。
AK190-C	5mL×1 瓶	4℃保存;
AK190-D	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加 1152μL 无水乙醇(自备), 48 μL 蒸馏水充分 溶解。(变褐色后不能再使用)
AK190-标准品 0.5 μmol/mL	1mL×1 支	4℃保存; (酚标准液)

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 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。

原理: 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。

自备用品:

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、1mL 玻璃比色皿、冰、蒸馏水、乙醇和甲苯。

催化反应:

称取风干混匀土壤约 0.1g, 加入 50μL 甲苯(自备), 轻摇 15min; 加 400μL AK190-A 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 AK190-B 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。

显色反应:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 660 nm, 蒸馏水调零。
2. 依次加入下列试剂:

试剂名称	空白管 (ul)	标准管 (ul)	测定管(ul)
蒸馏水	50		
标准液		50	
上清液			50
AK190-C	100	100	100
AK190-D	20	20	20
充分混匀, 显色后再加			
蒸馏水	830	830	830
混匀后 25℃静置 30 min, 于 660nm 测定吸光度, 记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管。			

注意: 空白管和标准管只需测定 1-2 次。

S-NP 活性计算：

活性单位定义：37℃中每克土壤每天释放 1nmol 酚为 1 个酶活单位。

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

注： C 标准液：0.5 μmol/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。

注意事项

1. 试剂对人体有一定的危害，请穿实验服，戴手套操作。
2. 线性范围为 0.03125μmol/mL-3μmol/mL。