

## 土壤中性磷酸酶(S-NP)活性检测试剂盒

### Soil Neutral Phosphatase Assay Kit

微量法

货号：AK191

规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK191-A	50mL×1 瓶	室温保存；
AK191-B	粉剂×1 瓶	4℃保存；用前加 100mL 蒸馏水充分溶解。
AK191-C	5mL×1 瓶	4℃保存；
AK191-D	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加 576μL 无水乙醇（自备），24μL 蒸馏水充分溶解。（变褐色后不能再使用）
AK191-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/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。

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 AK191-A 并且摇匀后，置于 37℃恒温培养箱，开始计时，催化反应 24h；到时后迅速加入 1mL AK191-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. 分光光度计或酶标仪预热 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	10		
标准液		10	
上清液			10
AK191-C	20	20	20
AK191-D	4	4	4
充分混匀，显色后再加			
蒸馏水	166	166	166
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。

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

$$= 725 \times (A \text{ 测定管-A 空白管}) \div (A \text{ 标准管-A 空白管}) \div W$$

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。