

土壤磷酸二酯酶(S-PDE)试剂盒（微板法）

产品货号：BA2804

产品规格：48样

产品简介：

土壤磷酸二酯酶(S-PDE,EC 3.1.4.1)是在土壤磷酸单酯酶之后的的第二大磷酸酶。其在土壤有机磷的循环代谢中起到重要作用。

本试剂盒提供一种简单、灵敏、快速的检测方法。土壤磷酸二酯酶(S-PDE)催化双(4-硝基苯)磷酸酯(BNPP)生成黄色的产物PNP，该产物在405nm处有最大吸收峰。通过检测PNP在405nm下的增加速率，即可得到S-PDE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100mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×6支	2-8℃	临用前每支甩几下或离心使粉剂落入底部，每支再加2mL蒸馏水混匀，取混合液检测即可。现配现用，三天内用完。
试剂三	液体40mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需仪器和用品：

酶标仪、96孔板、台式离心机、水浴锅或恒温培养箱、天平、可调式移液器。

土壤磷酸二酯酶(S-PDE)活性测定：

1. 样本制备：

取新鲜土样或干土(风干或者37度烘箱风干)，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405nm。
- 2) 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	0.1g鲜土或0.05g干土	0.1g鲜土或0.05g干土
试剂一	500	500
试剂二	100	
37℃(水浴锅或恒温培养箱)振荡反应1h		
试剂三	400	400
试剂二		100
混匀，12000rpm室温离心5min，立即取上清液200μL于96孔板中，立即于405nm下读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ，(参考注意事项)。		

【注】：1. 若A测定超过1.5，可对最后一步的待检测上清液(测定管和对照管)同时进行稀释(用水稀释即可)，稀释倍数D代入计算公式。

2. 若 ΔA 在零附近徘徊，可延长37℃的孵育时间T(如增至4小时或更长)，或增加土样质量W(如增至0.2g)。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

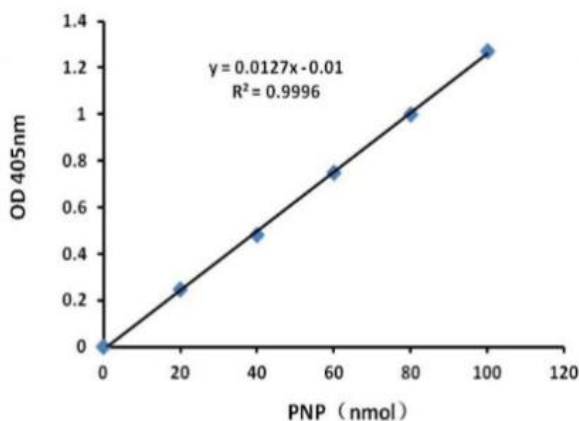
http://www.saint-bio.com

则改变后的T和W需代入计算公式重新计算。

3. 若同时检测同一背景下的土壤样本，此批土壤样本可做三次样本自身对照管(取平均值作为这批土壤样本的对照管)，节省时间；若是不同背景下的土壤样本(如黑土，红土，黄土等)，则每个样本需做一个自身对照，即按照说明书加样表操作即可。

结果计算：

1. 标准曲线： $y=0.0127x-0.001$ ；x是PNP摩尔质量(nmol)，y是 ΔA 。



2. 活性定义：在37°C，每克土壤每小时水解BNPP产生1nmol PNP定义为1个酶活单位。

$$S-PDE(nmol/h/g \text{ 土样}) = [(\Delta A + 0.01) \div 0.0127] \div W \div T \times D = 78.74 \times (\Delta A + 0.01) \div W \times D$$

W--土壤样品质量，g； D---稀释倍数，未稀释即为1；

T---催化反应时间，1h； PNP相对分子质量---139.11。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液(10 μ mol/mL)：向标准品EP管里面加入1.4mL蒸馏水超声溶解，若有结晶析出，需37°C水浴至完全溶解。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0，2，4，6，8，10 μ mol/ml。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在EP管中直接加入：10 μ L标准品+590 μ L试剂一+400 μ L试剂三，混匀，立即上清液200 μ L于96孔板中，立即于405nm下读取吸光值A。
4. 根据结果制作标准曲线。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>