

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700nm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mg×1支	2-8℃	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40mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加4.2mL蒸馏水，混匀溶解后备用。
试剂五	粉剂mg×7支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，每支再加1.5mL蒸馏水，混匀溶解备用，现配现用。
标准品	粉剂mg×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700nm，蒸馏水调零。
- 2) 反应mix制备：试剂四和五按照要求加蒸馏水溶解后，按试剂三：四：五=10:2:5的比例依次混合配置(需现配现用，若出现蓝色则需弃掉重新配置)。
- 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



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

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。		

4) 显色反应，在EP管或1mL玻璃比色皿中依次加入：

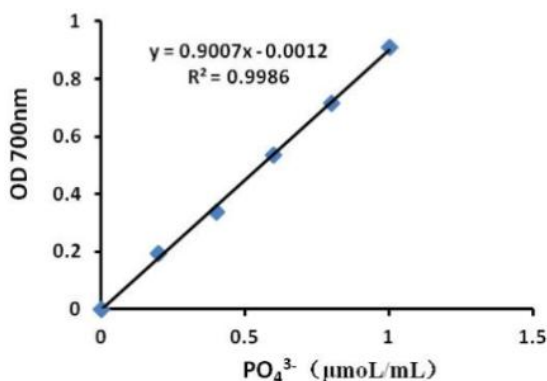
上清液	200	200
反应mix	600	600
混匀，室温静置15min，于700nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (参看注意事项)。		

【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℃，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

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>