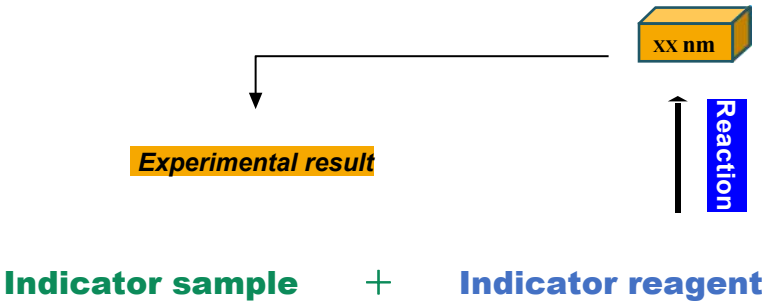
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0733　　规格：50管/48样

土壤中性磷酸酶（S-ACP）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 21mL×1 瓶	4℃避光保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	用前加 50mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	液体 11mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂四	粉剂×1 支	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）
标准品	液体 1mL×1 瓶	4℃保存	0.5 μmol/mL 苯酚标准液

产品说明：

土壤磷酸酶是一类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。土壤磷酸酶受到土壤碳、氮含量、有效磷含量和 pH 显著影响，根据最适 pH 范围，通常分为酸性、中性和碱性三种类型。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 S-NP 活性。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、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。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

称取风干混匀土壤约 0.1g，加入 0.05mL 甲苯（自备），轻摇 15min；加 0.4 mL 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；到时后迅速加入 1mL 试剂二充分混匀，以终止酶催化的反应。8000rpm，25℃离心 10min，取上清液置于冰上待测。

二、测定步骤：

a. 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 660 nm，蒸馏水调零。

b. 空白管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 50 μL 试剂一，200 μL 试剂三，20 μL 试剂四，充分混匀， 显色后再加蒸馏水 730 μL，混匀后室温静置 30 min，于 660 nm 测定吸光度，记为 A 空白管。

c. 标准管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 50 μL 标准液，200 μL 试剂三，20 μL 试剂四，充分混匀， 显色后再加蒸馏水 730 μL，混匀后室温静置 30 min，于 660 nm 测定吸光度，记为 A 标准管。

d. 测定管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 50 μL 上清液，200 μL 试剂三，20 μL 试剂四，充分混匀， 显色后再加蒸馏水 730 μL，混匀后室温静置 30 min，于 660 nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

三、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（nmol/d/g）=[C 标准液×(A 测定管—A 空白管)÷(A 标准管—A 空白管)] ×1000×V 总÷W÷T

=725×(A 测定管—A 空白管)÷(A 标准管—A 空白管)÷W

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；1000：单位换算系数，1μmol=1000nmol。

注：线性范围为 0.03125μmol/mL-1.5μmol/mL。