

Soil pyrophosphatase (S-PPase) Activity Assay Kit

土壤焦磷酸酶活性测定试剂盒说明书

货号: G0339W | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

土壤焦磷酸酶（焦磷酸盐磷酸水解酶，EC 3.6.1.1）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。

二、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 40mL×1 瓶 | 4℃ 保存 | |
| 试剂二 | 粉体 mg×1 瓶 | 4℃ 保存 | 用前甩几下使试剂落入底部，再加 3.2mL 蒸馏水，混匀溶解备用。 |
| 试剂三 | 液体 32mL×1 瓶 | 4℃ 保存 | |
| 试剂四 | 粉体 mg×1 支 | 4℃ 保存 | 临用甩几下使试剂落入底部，再加 2.2mL 蒸馏水，混匀溶解备用。 |
| 试剂五 | 粉体 mg×4 支 | 4℃ 保存 | 临用甩几下使试剂落入底部，每支再加 1.5mL 蒸馏水，混匀溶解备用，现配现用。 |
| 标准品 | 粉体 mg×1 支 | 4℃ 保存 | 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。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、蒸馏水。

四、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 酶标仪预热 30 min，调节波长到 700 nm。
- 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 |
|---------------------------------|-----|-----|
| 土壤样本 (g) | 0.1 | 0.1 |
| 试剂一 | 370 | 370 |
| 试剂二 | 30 | |
| 混匀，37℃ 振荡培养 2h（间隔 30min 振荡混匀一次） | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| 试剂三 | 200 | 200 |
| 试剂二 | | 30 |
| 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。 | | |

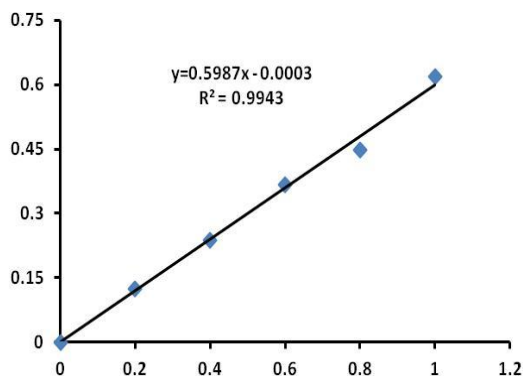
④ 显色反应，在 96 孔板中依次加入：

| | | |
|--|-----|-----|
| 上清液 | 50 | 50 |
| 反应 mix | 150 | 150 |
| 混匀，室温静置 15min，于 700nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A$ 测定 - A 对照（参看注意事项）。 | | |

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.5987x - 0.0003$ ；x 是标准品摩尔浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)，y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、活性定义：在 37℃，每克土壤每小时水解 $1\mu\text{mol}$ 焦磷酸产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷定义为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤焦磷酸酶}(\mu\text{mol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0003) \div 0.5987 \times V1 \div W \div T \\ &= 0.5 \times (\Delta A + 0.0003) \div W \end{aligned}$$

V1---孵育阶段整个反应体积：600 μL =0.6mL；

W---土壤样品质量，g；

T---催化反应时间，2 h；