

Soil Neutral Phosphatase Activity Assay Kit

土壤中中性磷酸酶(S-NP)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1764B	土壤中中性磷酸酶(S-NP)活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

土壤磷酸酶对土壤磷素的有效性具有重要作用，是评价土壤磷素生物转化方向和强度的指标，也与土壤碳、氮含量、有效磷含量和 pH 有一定的关系。

本试剂盒提供一种简单、灵敏、快速的检测方法。在中性环境中，土壤中中性磷酸酶（S-NP）催化磷酸对硝基苯酯（pNPP）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，即可得到土壤中中性磷酸酶活性的大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×4 瓶	4°C保存	每瓶临用前甩几下使粉体落入底部，每瓶再加 5.5mL 试剂一充分溶解，一周内用完。
试剂三	60mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

使用方法:

一、样本准备

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。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 405 nm。
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	空白管 (只做一次)
土样	0.1g 鲜土或 0.05g 干土	0.1g 鲜土或 0.05g 干土	-
甲苯	10	10	10
试剂一	290	490	290
试剂二	200	-	200
混匀，37°C（水浴锅或恒温培养箱）振荡反应 1h			
试剂三	300	300	300
混匀，12000rpm 室温离心 10min，取 200 μL 上清液转移至 96 孔板中，于 405nm 下读取各管吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ （每个测定管需设一个对照管）。			

【注】：1. 最后一步检测时，若有结晶析出，需要 37°C 复溶再读取吸光值。

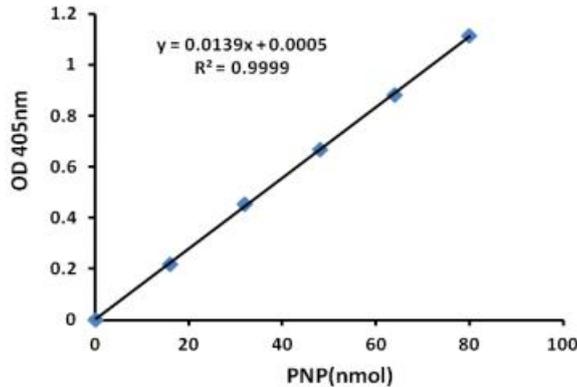
Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



- 2.若 ΔA 在零附近徘徊，可延长 37°C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）。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。
- 3.若测定管 A 值大于 1.5 或 ΔA 大于 1.5，可缩短 37°C的孵育时间 T（如减至 0.5 小时或更短）。则改变后 T 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液（包括测定管、对照管和空白管）同时用蒸馏水进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。
- 4.若同时检测一大批同一背景下土壤样本（如都是黄土，黑土，红土，黄土等），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），可从称样到检测步骤节省检测时间。

三、结果计算

1. 标准曲线 $y = 0.0139x + 0.0005$; x 是 PNP 摩尔质量 (nmol)，y 是 ΔA 。



2. 定义：每克土壤每小时水解 PNPP 产生 1nmol 对硝基苯酚（PNP）为一个酶活单位。

$$S\text{-NP}(\text{nmol/h/g 土样}) = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.0139] \div W \div T \times D = 71.9 \times (\Delta A - 0.0005) \div W \times D$$

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 $\mu\text{mol/mL}$ ）：向标准品离心管里面加入 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. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 1.6, 3.2, 4.8, 6.4, 8 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在离心管中直接加入：10 μL 标准品+490 μL 试剂一+300 μL 试剂三，混匀，取 200 μL 至 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

