

土壤磷酸二酯酶(S-PDE)试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2803

产品规格：24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60mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂mg×4支	2-8°C	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20mL×1瓶	2-8°C	
标准品	粉剂mg×1支	2-8°C	若重新做标曲，则用到该试剂。

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) 可见分光光度计预热30min，调节波长到405nm，蒸馏水调零。
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°C(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，立即取全部上清液至1mL比色皿(光径1cm)中，立即于405nm下读取吸光值A，ΔA=A测定-A对照，(参考注意事项)。		

- 【注】：1. 若A测定超过1.8，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°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)。



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

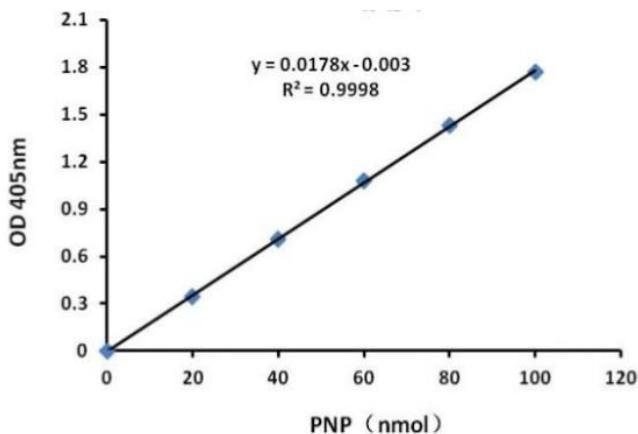
扫一扫 加微信

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： $y=0.0178x-0.003$ ；x是PNP摩尔质量(nmol)，y是 ΔA 。



2. 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。

$$S-PDE(\text{nmol/h/g 土样}) = [(\Delta A + 0.003) \div 0.0178] \div W \div T \times D = 56.2 \times (\Delta A + 0.003) \div W \times D$$

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(10μmol/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, 10μmol/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：10μL标准品+590μL试剂一+400μL试剂三，混匀，立即全部上清液至1ml玻璃比色皿(光径1cm)中，立即于405nm下读取吸光值A。
4. 根据结果制作标准曲线。



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

扫一扫 加微信