

土壤中中性磷酸酶 (S-NP) 活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0460

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 21 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 11 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	粉剂×2 支	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

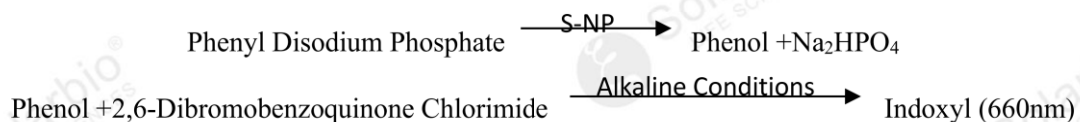
溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 50mL 蒸馏水充分溶解，2-8°C保存 8 周；
- 2、试剂四：临用前取 1 支加入 576μL 无水乙醇（自备），24μL 蒸馏水充分溶解。试剂变褐色后不能再使用，2-8°C可保存 2 周；
- 3、标准品：0.5μmol/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。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、台式离心机、37°C恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、研钵、冰、蒸馏水、乙醇 (>98%，AR)、30~50 目筛和甲苯 (>98%，AR)。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比可以例参考文献）

1. 新鲜土样自然风干或 37°C烘箱风干，过 30~50 目筛。
2. 称取风干混匀土壤约 0.1g，加入 0.05mL 甲苯（自备），轻摇 15min；然后再加入 0.4mL 试剂一并且充分摇匀，置于 37°C恒温培养箱，开始计时，催化反应 24h；到时时取出并迅速加入 1mL 试剂二，充分混匀，以终止酶催化的反应。10000rpm，25°C离心 10min，取上清液置于冰上待测。

二、测定步骤

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





- 空白管：取 1mL 玻璃比色皿，依次加入 50 μ L 试剂一，200 μ L 试剂三，20 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加 730 μ L 蒸馏水，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 空白管。
- 标准管：取 1mL 玻璃比色皿，依次加入 50 μ L 标准液，200 μ L 试剂三，20 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加 730 μ L 蒸馏水，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 标准管。
注：空白管和标准管只需测定 1-2 次。
- 测定管：取 1mL 玻璃比色皿，依次加入 50 μ L 上清液，200 μ L 试剂三，20 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加 730 μ L 蒸馏水，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

三、S-NP 活性计算

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C 中每克土壤每天释放 1nmol 酚为 1 个酶活单位。

$$\text{S-NP 活性 (U/g 土样)} = [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times 1000 \times V_{\text{总}} \div W \div T \\ = 725 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div W$$

C 标准液：0.5 μ mol/mL；V 总：催化体系总体积，1.45mL；W：土壤样本质量，g；T：催化反应时间，24h=1d；1000：单位换算系数，1 μ mol=1000nmol。

注意事项：

测定期间请将样本在冰上放置，以免酶变性或失活。

相关发表文献：

[1] Zhang M, Xue Y, Jin T, Zhang K, Li Z, Sun C, Mi Q, Li Q. Effect of Long-Term Biodegradable Film Mulch on Soil Physicochemical and Microbial Properties. *Toxics*. 2022 Mar 7;10(3):129. doi: 10.3390/toxics10030129.

[2] Zhang J, Cheng K, Liu X, Dai Z, Zheng L, Wang Y. Exogenous abscisic acid and sodium nitroprusside regulate flavonoid biosynthesis and photosynthesis of *Nitraria tangutorum* Bobr in alkali stress. *Front Plant Sci*. 2023 Mar 15;14:1118984. doi: 10.3389/fpls.2023.1118984. PMID: 37008502; PMCID: PMC10057120.

[3] Xiao J, Lan S, Farias ME, Qian L, Xia L, Song S, Wu L. The living forms of *Microcoleus vaginatus* and their contributions to the aggregate structure of biocrusts. *FEMS Microbiol Ecol*. 2023 Apr 7;99(5): fiad040. doi: 10.1093/femsec/fiad040. PMID: 37028939.

[4] Xiong Y, Yang X, Xiong Y, Xiong C, Gou W, Ma X. Insights into soil bacterial and physicochemical properties of annual ryegrass-maize rotation (ARMR) system in southern China. *Sci Rep*. 2021 Oct 11;11(1):20125. doi: 10.1038/s41598-021-99550-z. PMID: 34635706; PMCID: PMC8505654.

参考文献：

[1] Powell MEA, Smith MJH. The Determination of Serum Acid and Alkaline Phosphatase Activity with 4-Aminoantipyrine (A.A.P.) [J]. *Journal of Clinical Pathology*, 1954, 7: 245-248.

[2] Belfield A, Goldberg DM. Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4-amino-antipyrine[J]. *Enzyme*, 1971, 12(5): 561-573.

相关系列产品：

- BC0120/BC0125 土壤脲酶 (S-UE) 活性检测试剂盒
- BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒
- BC0160/BC0165 土壤 β -葡萄糖苷酶 (S- β -GC) 活性检测试剂盒
- BC0890/BC0895 土壤过氧化物酶 (S-POD) 活性检测试剂盒

