

土壤磷酸二酯酶(S-PDEs)活性试剂盒

规格：分光法 24 样

检测原理：BNPP 底物法

编号：ml301007

检测波长：405nm

注意：

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

土壤磷酸二酯酶是在土壤磷酸单酯酶之后的第二大磷酸酶, 在土壤有机磷的循环代谢中起到重要作用。

测定原理：

通过 PDEs 水解底物, 产生的物质在 405nm 处有最大吸收峰。测定 405nm 处的 OD 值大小和标准曲线计算土壤中 PDEs 活力。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、水浴锅和蒸馏水。

试剂的组成

试剂一：粉剂×1 瓶，-20℃避光保存。临用前加入 10mL 试剂二溶解；

试剂二：液体 40mL×1 瓶，4℃保存；

试剂三：液体 20mL×1 瓶，4℃避光保存。

样本处理：

取新鲜土样或干土（风干或者 37℃烘箱风干），过 40 目筛备用。

测定步骤和加样表:

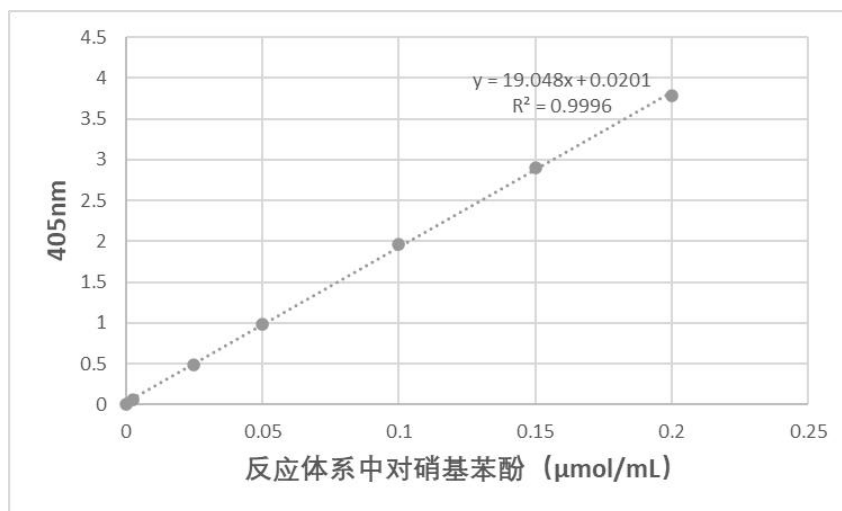
1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 405nm, 蒸馏水调零。
2. 所有试剂平衡至室温 (25°C) 。
3. 在 1.5mL 棕色 EP 管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
土样	0.05g	0.05g
试剂一	400	-
试剂二	400	800
37°C振荡反应 60min		
试剂三	400	400
混匀 25°C 12000rpm 离心 5min 取 1000μL 上清液至 1mL 比色皿中于 405nm 处读取吸光值。ΔA = A 测定管 - A 对照管。		

注意: 如果ΔA 光值大于 2 则需要对样本进行稀释, 稀释倍数带入计算公式。如果ΔA 小于 0.05, 则需要增加样本量。

结果计算:

标准曲线: $y = 19.048x + 0.0201$, $R^2 = 0.9998$; x 为反应体系中对硝基苯酚浓度 ($\mu\text{mol/mL}$), y 为 ΔA 。



单位定义：37°C 条件下，每克土壤每分钟生成 1 μ mol 产物定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDE (U/g)} = (\Delta A - 0.0201) \div 19.048 \times V_{\text{反}} \div T \div W$$

V 反：反应体系总体积，1.2mL；

W：样本质量，g；

T：酶促反应时间，60min。

预实验的意义：

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。