



0.02、0.01 $\mu\text{mol/mL}$  备用。

3. 标准溶液稀释可参考下表：

序号	稀释前浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )	标准品体积 ( $\mu\text{L}$ )	蒸馏水体积 ( $\mu\text{L}$ )	稀释后浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )
1	10	100	700	1.25
2	1.25	200	200	0.625
3	0.625	200	200	0.3125
4	0.3125	200	200	0.15625
5	0.15625	200	200	0.078125
6	0.078125	200	200	0.039
7	0.039	200	200	0.02
8	0.02	200	200	0.01

备注：实验中每个标准管需 100 $\mu\text{L}$  标准溶液。

4. 在离心管中按下表步骤加样

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	测定管	对照管	标准管	空白管
土样	0.03g	0.03g	-	-
试剂一	20	20	-	-
振荡，用试剂一将土样浸湿（潮湿状态即可），室温放置 15min。				
试剂二	500	-	-	-
混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴/恒温培养 24h，沸水浴 10min				
试剂二	-	500	-	-
10000g，25 $^{\circ}\text{C}$ 离心 5min，取上清，以下步骤可直接加在 96 孔板或微量玻璃比色皿中。				
标准液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
上清液	100	100	-	-
工作液	100	100	100	100

室温静置 15min，于 700nm 处测定吸光值，分别记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白。分别计算  $\Delta A$  测定 = A 测定 - A 对照， $\Delta A$  标准 = A 标准 - A 空白（标准曲线和空白管只需做 1-2 次，每个测定管需设置一个对照管）。

### 三、土壤植酸酶活性的计算

#### 1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 ( $x$ ,  $\mu\text{mol/mL}$ ) 和吸光度  $\Delta A$  标准 ( $y$ ,  $\Delta A$  标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A$  测定 ( $y$ ,  $\Delta A$  测定) 代入公式计算样本浓度 ( $x$ ,  $\mu\text{mol/mL}$ )。

#### 2. 土壤植酸酶活性计算：

单位定义：37 $^{\circ}\text{C}$ 下每 g 土壤每天在反应体系释放 1 $\mu\text{mol}$  无机磷为 1 个酶活力单位。

土壤植酸酶活性 (U/g) =  $x \times V \text{ 反总} \div W \div T = 0.52x \div W$

V 反：反应体系总体积，0.52mL；W：土壤质量，g；T：反应时间，24h=1d。

#### 注意事项：

- 为防止沸水浴 10min 过程中水分散失，建议使用螺旋盖的离心管或用封口膜给 EP 管缠口。
- 如果  $\Delta A$  测定 < 0.01，适当延长第一步 37 $^{\circ}\text{C}$  反应时间或加大样本量后，重新测定。如果  $\Delta A$  测定 > 1.2，建议将上清液用蒸馏水适当稀释后进行测定，注意乘以稀释倍数。
- 结果于 30min 内测定完毕，尽量保证所有样本测定时间的一致性。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com