

土壤磷酸双酯酶（S-PDE）活性检测测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SYHA4-M48	土壤磷酸双酯酶（S-PDE）活性检测试剂盒	48T	微量法
SYHA4-M96		96T	

一、测定意义：

土壤磷酸双酯酶通过催化土壤中磷酸双酯类化合物的水解，断裂磷酸双酯键并释放无机磷及对应的醇类物质，是土壤有机磷库向植物可利用磷形态转化的重要生物驱动力。测定其活性可直接反映土壤中复杂有机磷的分解效率与磷素生物有效性，为评估土壤供磷能力、优化磷肥管理（尤其是针对有机磷丰富的土壤）提供核心依据；同时，作为土壤生物活性的敏感指标，其活性变化能够有效指示土壤生态系统健康状况，揭示长期施肥、土地利用变化或污染等因素对土壤磷循环及生物化学过程的影响，对维持土壤肥力、促进农业可持续发展及土壤生态环境保护具有重要的理

二、测定原理：

土壤磷酸双酯酶催化底物双（4-硝基苯）磷酸酯水解，断裂磷酸双酯键生成对硝基酚和无机磷酸。通过调节体系至碱性使产物显色，利用其在400nm波长下的吸光度与浓度线性关系，结合标准曲线定量酶促反应生成的对硝基酚，进而换算酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
甲苯	自备	自备	2-8℃保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂二配制： 每瓶粉剂加入蒸馏水3mL，充分溶解。			
试剂三	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 25mL×1 瓶	液体 50mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品(1mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

新鲜土样自然风干或者37℃烘箱风干，过30-50目筛。

操作步骤

- 1、酶标仪预热30min以上，调节波长至400nm。
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将1mg/mL标准品用蒸馏水依次稀释至0、10、20、40、80、100μg/mL，备用；
- 4、培养反应（将试剂依次加入离心管中）：

试剂名称	测定管	对照管
土样 (g)	0.05	0.05
甲苯 (μL)	25	25
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置15min		
试剂一 (μL)	250	250
蒸馏水 (μL)	-	50
试剂二应用液 (μL)	50	-
混匀，37℃孵育3h		
试剂三 (μL)	50	50
混匀，10000转/min常温离心10min，取上清液备用。		

2、显色反应（将试剂依次加入96孔板中）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
上清液 (μL)	20	20	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	20
标准品 (μL)	-	-	20	-
试剂四 (μL)	180	180	180	180

混匀，静置10min，波长400nm，酶标仪测定各管吸光度值，分别记为A_{测定}，A_{对照}，A_{标准}，A_{空白}，计算ΔA_{测定}=A_{测定}-A_{对照}，
 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管。

五、单位定义与计算：

- 1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$ ，x为吸光度值，y为标准品浓度 (mg/mL)。

根据标准曲线，将ΔA_{测定}带入公式计算出样本浓度 (y, mg/mL)；

2、**单位定义：**每小时每克风干土壤中产生 1μg 对硝基酚为一个酶活力单位。

计算公式： S-PDE(μg/g /h) = y × V_{反总} ÷ W ÷ T

T：反应时间，3h；V_{反总}：培养反应总体积，0.35mL；W：样本质量，0.05g。

六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的磷酸双酯酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、甲苯易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日