

土壤焦磷酸酶 (S-PPase) 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
SYHA5-C24	土壤焦磷酸酶 (S-PPase) 试剂盒	24T	常量法
SYHA5-C48		48T	

一、测定意义：

土壤焦磷酸酶 (S-PPase) 作为土壤磷循环的关键功能酶，其活性直接反映土壤中焦磷酸盐的转化效率，而焦磷酸盐作为土壤有机磷转化的中间产物，其水解过程对植物有效磷的供应至关重要；同时，S-PPase 活性可作为评估土壤肥力水平、生态系统物质循环强度及土壤微生物活性的敏感生物学指标，为土壤管理、施肥优化及生态修复提供科学依据。

二、测定原理：

焦磷酸酶可催化焦磷酸根水解生成无机磷酸根；反应终止后，通过加入显色试剂，使体系中形成磷钼杂多酸，被还原为蓝色的钼蓝复合物；该复合物在 660nm 下的吸光度与无机磷酸根浓度呈线性关系，通过与标准磷酸溶液的吸光度对比，可定量计算反应生成的无机磷酸根量，从而间接表征 S-PPase 的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
甲苯	自备	自备	2-8℃保存
试剂一	液体 40mL×1 瓶	液体 80mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂二配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 7mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂三配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 7mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂四	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂五配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 10mL，混匀充分溶解，现用现配。			

试剂六	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂六配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 10mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂七	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
定磷剂的配制： 现用现配，按双蒸水:试剂五:试剂六:试剂七=2:1:1:1 的比例配制，配好的定磷剂应为浅黄色，若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染。			
标准品 (10μmol/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、分光光度计预热 30min，调节波长至 660nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将 10μmol/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、0.1、0.2、0.4、0.8、1μmol/mL，备用；
- 4、培养反应（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	基质管
土样 (g)	0.1	0.1	-
甲苯 (μL)	50	50	50
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min			
试剂一 (μL)	600	600	600
试剂二 (μL)	200	-	200
试剂三 (μL)	200	-	200
蒸馏水 (μL)	-	400	-
混匀，37℃孵育 24h			
试剂四 (μL)	500	500	500
混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。			

2、显色反应（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管	基质管

上清液 (μL)	100	100	-	-	100
蒸馏水 (μL)	-	-	-	100	-
标准品 (μL)	-	-	100	-	-
定磷试剂(μL)	1000	1000	1000	1000	1000

混匀, 45℃孵育 20min, 波长 660nm, 分光光度计测定各管吸光度值。

注: 每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管; 分别记为 $A_{\text{测定}}$, $A_{\text{对照}}$, $A_{\text{标准}}$, $A_{\text{空白}}$, $A_{\text{基质}}$, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{基质}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。 (基质管只需做 1 到 2 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 为标准品浓度浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)。根据标准曲线, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度 (y , $\mu\text{mol/mL}$) ;

2、单位定义: 每小时每克土壤中催化焦磷酸盐水解生成 $1\mu\text{mol}$ 无机磷为一个酶活力单位。

$$S\text{-PPase}(\mu\text{mol/g/h}) = y \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

T : 反应时间, 24h; $V_{\text{反应}}$: 培养反应总体积, 1.5mL; W : 样本质量, 0.1g。

六、注意事项:

1、不同土壤样本的焦磷酸酶差异较大, 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。

2、比色时需保证溶液澄清, 若有沉淀需离心处理后取上清液测定, 且吸光度应控制在标准曲线的线性范围内, 超出范围需稀释样品重新测定。

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