

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-M48	土壤焦磷酸酶	48T	微量法
SYHA5-M96	(S-PPase) 试剂盒	96T	

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、试剂盒组成：

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	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 5mL，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 5mL，混匀充分溶解，现用现配。

试剂七	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 660nm。
- 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（将试剂依次加入离心管中）：

试剂名称	测定管	对照管	基质管
土样 (g)	0.05	0.05	-
甲苯 (μL)	25	25	25
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min			
试剂一 (μL)	300	300	300
试剂二 (μL)	100	-	100
试剂三 (μL)	100	-	100
蒸馏水 (μL)	-	200	-
混匀，37℃ 孵育 24h			
试剂四 (μL)	250	250	250
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	基质管
上清液 (μL)	20	20	-	-	20
蒸馏水 (μL)	-	-	-	20	-
标准品 (μL)	-	-	20	-	-

定磷试剂(μL)	200	200	200	200	200
混匀，45℃孵育 20min，波长 660nm，酶标仪测定各管吸光度值。					
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 _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ，A _{基质} ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照} - A_{基质}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。（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(μmol/mL)。

根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ 带入公式计算出样本浓度 (y, μmol/mL)；

2、单位定义：每小时每克土壤中催化焦磷酸盐水解生成 1μmol 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_{反应}：培养反应总体积，0.75mL；W：样本质量，0.05g。

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