

## 土壤中性磷酸单酯酶（S-NPase）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
SYHA7-M48	土壤中性磷酸单酯酶	48T	微量法
SYHA7-M96	（S-NPase）试剂盒	96T	

### 一、测定意义：

土壤中性磷酸单酯酶通过催化中性环境中有机磷的水解，将植物难以直接吸收的有机磷转化为可利用的无机磷形态，是连接土壤有机磷库与植物磷素营养的核心生物催化剂。测定其活性可直接反映中性土壤中有机磷的转化效率与磷素生物有效性，为判断土壤肥力水平、指导磷肥合理施用提供科学依据；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中性土壤生态系统的健康状态，揭示长期耕作、气候变化等因素对土壤磷循环的影响，对维持农田土壤生产力、促进农业可持续发展及区域土壤生态平衡具有重要的理论与实践价值。

### 二、测定原理：

土壤中性磷酸单酯酶在中性环境中，催化对硝基苯磷酸二钠水解生成对硝基酚，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	-20℃保存
<b>试剂二配制：</b> 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）：

	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）：

	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 <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>标准</sub> ，A <sub>空白</sub> ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。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 $\Delta A_{\text{标准}}$ 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（ $\mu\text{g/mL}$ ）。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度（ $y$ ， $\mu\text{g/mL}$ ）；

2、单位定义：每小时每克风干土壤中产生 $1\mu\text{g}$ 对硝基酚为一个酶活力单位

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

$T$ ：反应时间，3h； $V_{\text{反应}}$ ：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单酯酶差异较大，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