

## 土壤酸性磷酸单酯酶（S-ACPase）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 |
|-----------|---------------|------|------|
| SYHA9-M48 | 土壤酸性磷酸单酯酶     | 48T  | 微量法  |
| SYHA9-M96 | （S-ACPase）试剂盒 | 96T  |      |

### 一、测定意义：

土壤酸性磷酸单酯酶通过催化土壤中有机磷的水解，释放可供植物直接吸收的无机磷，是连接土壤有机磷库与植物磷素营养的关键生物桥梁。测定其活性可直观反映土壤磷素转化效率与生物有效性，为判断土壤供磷能力、指导合理施肥提供科学依据；同时，作为土壤生物化学性质的敏感指标，其活性变化还能有效指示土壤环境质量、生态系统健康状况及人类活动对土壤磷循环的影响，对农业可持续发展与土壤生态保护具有重要的理论与实践价值。

### 二、测定原理：

土壤酸性磷酸单酯酶在酸性环境中，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 |
| 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）：

|                                   | 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 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ， $A_{\text{标准}}$ ， $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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  $\Delta A_{\text{标准}}$  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: 每小时每克土壤中产生  $1\mu\text{g}$  对硝基酚为一个酶活力单位。

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

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