



土壤中性磷酸酶（S-NP）活性检测试剂盒说明书

规格：50 管/24 样 方法：酶标仪法

一、注意事项

- 1.在 96 孔板中依次加入试剂三、试剂四和蒸馏水水时，应充分吹打混匀，避免产生误差。
- 2.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测。
- 3.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
甲苯	自备 1.5mL	常温避光	棕色瓶保存，分析纯
试剂一	6 mL×1	4°C	
试剂二	粉剂×1	4°C	临用前加入30 mL 超纯水或蒸馏水溶解，4°C可保存 8 周
试剂三	0.6 mL×1	4°C	
试剂四	粉剂×2	4°C避光	临用前取其中 1 瓶加入 250 μL 试剂五充分溶解，剩下的溶液未变褐色之前均可使用，因保存时间短多给 1 瓶备用
试剂五	2 mL×1	4°C避光	

三、仪器和用品

无水乙醇、酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

四、样品制备

新鲜土样自然风干或 37°C烘箱风干，过 60 目筛备用。

五、测定步骤：

- 1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 660 nm 处。
- 2.在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	空白管
风干土样（g）	0.1	-
甲苯（μL）	50	-

轻摇混匀，静置 15 min，加入下列试剂



试剂一 (μL)	200	-
摇匀后, 置于 37°C恒温培养箱或水浴锅, 催化反应 24 h 时, 快速加入下列试剂		
试剂二 (μL)	1000	-
充分混匀, 8000 g, 常温离心 10 min, 取上清液置于冰上待测		

3.在 96 孔板中依次加入 (加入下列试剂时确保准确, 降低误差)

试剂名称	测定管	空白管
上清液	10	-
超纯水或蒸馏水 (μL)	-	10
试剂三 (μL)	20	20
试剂四 (μL)	8	8
充分混匀, 显色		
超纯水或蒸馏水 (μL)	162	162
混匀后常温静置 35 min, 取 200 μL 于 96 孔板中, 在 660 nm 下测定吸光度值 A, 记着 A 测定, A 空白, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。注意: 空白管只需测定 2-3 管。		

六、计算:

1.标准方程

标准条件下测得回归方程为 $y = 0.7338x - 0.0057$, $R^2 = 0.9998$, x 为标准品浓度 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

2.单位定义

每天每 g 土样中产生 1 μg 苯酚定义为一个酶活力单位 U。

土壤中性磷酸酶 (S-NP) 活性 ($\mu\text{g/d/g}$ 土样) = $125 \times (\Delta A - 0.0057) \div 0.7338 \div T \div W$
= $170.35 (\Delta A - 0.0057) \div W$ 。

T: 反应时间, 24 h = 1 d; W: 样本质量, 0.1 g; 125: 分取倍数。

五、产品简介

土壤磷酸酶对土壤磷素的有效性具有重要作用, 是评价土壤磷素生物转化方向和强度的指标, 也与土壤碳、氮含量、有效磷含量和 pH 有一定的关系。