

土壤酸性磷酸酶 (S-ACP) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0089	土壤酸性磷酸酶 (S-ACP) 活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 ×1 瓶	4℃, 避光
试剂二	粉剂 ×1 瓶: 临用前加入 50mL 蒸馏水充分溶解。	4℃
试剂三	液体 ×1 瓶	4℃
试剂四	粉剂 ×1 瓶: 临用前加入 1152μL 无水乙醇 (自备)、48μL 蒸馏水充分溶解。 (变褐色后不能使用)	4℃, 避光
标准品	液体 ×1 瓶: 0.5μmol/mL 苯酚标准液。	4℃

一、产品说明

土壤磷酸酶是一类催化土壤有机磷矿化的酶,其活性的高低直接影响着土壤中有机磷的分解转化及其生物有效性,是评价土壤磷素生物转化方向与强度的指标。土壤磷酸酶受到土壤碳、氮含量、有效磷含量和 pH 显著影响,根据最适 pH 范围,通常分为酸性、中性和碱性三种类型。

酸性环境中, S-ACP 催化磷酸苯二钠水解生成苯酚和磷酸氢二钠,通过测定酚的生成量即可计算出 S-ACP 活性。

二、自备材料

可见分光光度计、台式离心机、37℃ 恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、冰、蒸馏水、乙醇和甲苯。

三、样品制备

称取风干混匀土壤约 0.1g, 加入 50μL 甲苯 (自备), 轻摇 15min; 加 0.4 mL 试剂一并且摇匀后, 置于 37℃ 恒温培养箱, 开始计时, 催化反应 24h; 到时时后迅速加入 1mL 试剂二充分混匀, 以终止酶催化的反应。 8000g, 25℃ 离心 10min, 取上清液置于冰上待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min, 调节波长至 660nm, 蒸馏水调零。
- 2、空白管: 取 1mL 玻璃比色皿, 加入 50 μL 蒸馏水, 100 μL 试剂三, 20 μL 试剂四, 充分混匀, 显色后再加蒸馏水 830 μL, 混匀后 25℃ 静置 30 min, 于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 空白管。
- 3、标准管: 取 1mL 玻璃比色皿, 加入 50 μL 标准液, 100 μL 试剂三, 20 μL 试剂四, 充分混匀, 显色后再加蒸馏水 830 μL, 混匀后 25℃ 静置 30 min, 于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 标准管。
- 4、测定管: 取 1mL 玻璃比色皿, 加入 50 μL 上清液, 100 μL 试剂三, 20 μL 试剂四,

充分混匀, 显色后再加蒸馏水 830 μL , 混匀后 25 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min, 于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 测定管。

注: 空白管和标准管只需测定一次。

五、S-ACP 活性的计算

活性单位定义: 37 $^{\circ}\text{C}$ 中每克土壤每天释放 1 μmol 酚为 1 个酶活单位。

$$\text{S-ACP } (\mu\text{mol/d/g 土样}) = [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{W} = \text{T} = 0.725 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

C 标准液: 0.5 $\mu\text{mol/mL}$; V 总: 催化体系总体积, 1.45mL; W: 土壤样品质量, g; T: 催化反应时间, 24 h=1d。

六、注意事项

- 1、试剂四溶解后变褐色后不能使用。
- 2、空白管和标准管只需测定 1 次。