

土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒 (微量法)
(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
YFX0117	土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒	100 管/96 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: 临用前每瓶加入 100mL 蒸馏水充分溶解。	4℃
试剂三	液体 × 1 瓶	4℃
试剂四	粉剂 × 1 瓶: 临用前每瓶加入 576μL 无水乙醇 (自备)、24μL 蒸馏水充分溶解。(溶液变褐色后不能使用)	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化合物矿化的酶, 其活性的高低直接影响着土壤中有机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。通常按照其最适 pH 范围, 分为碱性、中性和酸性三种类型磷酸酶。

碱性环境中, S-AKP/ALP 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-AKP/ALP 活性。

二、自备材料

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、37℃ 恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿/96 孔板、冰、蒸馏水、无水乙醇、甲苯。

三、样品制备

- 新鲜土样自然风干或 37℃ 烘箱风干, 过 30~50 目筛。
- 催化反应: 称取风干混匀土壤约 0.1g, 加入 50μL 甲苯 (自备), 轻摇 15min; 加 400μL 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, 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。

- 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 660nm, 蒸馏水调零。
- 空白管: 取 1mL 玻璃比色皿/酶标板, 加入 10μL 蒸馏水、20μL 试剂三、4μL 试剂四, 充分混匀, 显色后再加 166μL 蒸馏水, 混匀后 25℃ 静置 30min, 于 660nm 测定吸光值, 记为 A 空白管。
- 标准管: 取 1mL 玻璃比色皿/酶标板, 加入 10μL 标准液、20μL 试剂三、4μL 试剂四, 充分混匀, 显色后再加 166μL 蒸馏水, 混匀后 25℃ 静置 30min, 于 660nm 测定吸光值, 记

为 A 标准管。

4、测定管：取 1mL 玻璃比色皿/酶标板，加入 10 μ L 上清液、20 μ L 试剂三、4 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加 166 μ L 蒸馏水，混匀后 25 $^{\circ}$ C 静置 30min，于 660nm 测定吸光值，记为 A 测定管。

五、S-AKP/ALP 活性的计算

单位的定义：37 $^{\circ}$ C 每天每 g 土壤释放 1 μ mol 酚为一个酶活力单位。

计算公式：

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

C 标准液：0.5 μ 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=1 d。

六、注意事项

- 1、空白管和标准管只需测一次。
- 2、试剂四溶解后如变色为褐色，不能使用。