

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0734

Size: 50T/48S

土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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。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。

二、测定原理:

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。

三、需自备的仪器和用品:

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

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 20mL × 1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	粉剂 × 1 瓶	4℃保存	用前加 50mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	液体 5mL × 1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂 × 1 瓶	4℃避光保存	临用前加 1152 μL 无水乙醇(自备), 48 μL 蒸馏水充分溶解。(变褐色后不能再使用)
标准品	液体 1mL × 1 支	4℃保存	0.5 μmol/mL 苯酚标准液

五、操作步骤:

● 催化反应:

称取风干混匀土壤约 0.1g, 加入 0.05mL 甲苯 (自备), 轻摇15min; 加 0.4 mL 试剂一并且摇匀后, 置于 37°C恒温培养箱, 开始计时, 催化反应 24h; 到时时迅速加入 1mL 试剂二充分混匀, 以终止酶催化的反应。10000rpm 室温离心 10min, 取上清液置于冰上待测。

● 显色反应:

(1) 分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长到 660 nm, 蒸馏水调零。

(2) 空白管: 取 1mL 玻璃比色皿, 加入 50 μ L 蒸馏水, 100 μ L 试剂三, 20 μ L 试剂四, 充分混匀, 显色后再加蒸馏水 830 μ L, 混匀后室温静置 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 μ L 标准液, 100 μ L 试剂三, 20 μ L 试剂四, 充分混匀, 显色后再加蒸馏水 830 μ L, 混匀后室温静置 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 μ L 上清液, 100 μ L 试剂三, 20 μ L 试剂四, 充分混匀, 显色后再加蒸馏水 830 μ L, 混匀后室温静置 30 min, 于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 测定管。

六、S-ALP 活性计算:

活性单位定义: 37°C中每克土壤每天释放 1 μ mol 酚。

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

C 标准液: 0.5 μ mol/L; 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。