

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

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

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

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

产品简介：

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。

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。

试验中所需的仪器和试剂：

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）。

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℃恒温培养箱，开始计时，催化反应 24h；到时后迅速加入 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：

- a. 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 660 nm，蒸馏水调零。
 - b. 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。
 - c. 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。
- 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。

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。