

## 土壤碱性磷酸酶(S-AKP/ALP)活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

**注意：**正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

**货号：**BC0280

**规格：**50T/48S

### 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。

### 产品内容：

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 1152μL 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，0.5μmol/mL 苯酚标准液，4℃ 保存。

### 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 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 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 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℃中每克土壤每天释放 1 $\mu$ mol 酚。

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

C 标准液：0.5 $\mu$ 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。