

土壤酸性磷酸酶(S-ACP)试剂盒说明书

(货号：ADS-W-TR008 微板法 96 样)

有效期：3 个月

测定意义：

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。

测定原理：

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。

自备仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、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。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 42ml×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃ 保存。用前加 100mL 蒸馏水充分溶解。

试剂三：液体 2.5×1 瓶，4℃ 保存。

试剂四：粉剂×1 瓶，4℃ 避光保存。临用前加 576 μL 无水乙醇（自备），24 μL 蒸馏水充分溶解。（变褐色后不能再使用）

标准品：液体 1ml×1 瓶，0.5μmol/mL 苯酚标准液，4℃ 保存。

粗酶液提取：

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。

测定步骤：

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**：取微量玻璃比色皿/酶标板，加入 10μL 蒸馏水，20μL 试剂三，4μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 166μL，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**：取微量玻璃比色皿/酶标板，加入 10μL 标准液，20μL 试剂三，4μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 166μL，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**：取微量玻璃比色皿/酶标板，加入 10μL 上清液，20μL 试剂三，4μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 166μL，混匀后室温静置 30 min，于 660 nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

S-ACP 活性计算：

活性单位定义：37℃ 中每克土壤每天释放 1μmol 酚。

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

C 标准液：0.5 μmol/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，24h=1 d。

艾迪生