

土壤酸性磷酸酶(S-ACP)活性检测试剂盒

Soil acid phosphatase Assay Kit

微量法

货号: AK177

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK177-A	42 mL×1 瓶	4℃避光保存
AK177-B	粉剂×1 瓶	4℃保存, 用前加 100mL 蒸馏水充分溶解
AK177-C	5 mL×1 瓶	4℃保存
AK177-D	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)
AK177-标准品 (0.5umol/ml)	1 mL×1 支	4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 土壤酸性磷酸酶 (Soil acid phosphatase, S-ACP) 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。

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。

自备用品:

可见分光光度计/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、30-50 目筛、冰、蒸馏水、乙醇和甲苯。

粗酶液提取:

- 新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干, 过 30~50 目筛。
- 称取风干混匀土壤约 0.1g, 加入 50μL 甲苯(自备), 轻摇 15min; 加 0.4 mL AK177-A 并且摇匀后, 置于 37℃恒温培养箱, 开始计时, 催化反应 24h; 到时间后迅速加入 1mL AK177-B 充分混匀, 以终止酶催化的反应。8000g, 25℃离心 10min, 取上清液置于冰上待测。

测定步骤:

- 分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长到 660 nm, 分光光度计用蒸馏水调零。
- 在 EP 管中依次加入下列试剂:

试剂名称	空白管 (ul)	标准管 (ul)	测定管 (ul)
蒸馏水	10		
标准液		10	
上清液			10
AK177-C	20	20	20
AK177-D	4	4	4
充分混匀, 显色后再加蒸馏水			
蒸馏水	166	166	166

混匀后室温静置 30 min, 于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管。
注意: 空白管和标准管只需测定 1-2 次。

S-ACP 活性计算公式:

活性单位定义: 37℃中每克土壤每天释放 1nmol 酚为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-ACP (U/g)} &= [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times V_{\text{总}} \times 1000 \div W \div T \\ &= 725 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div W \end{aligned}$$

注: 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, 1000: 单位换算系数, 1μmol=1000nmol。