

土壤碱性磷酸酶(S-AKP/ALP)活性检测试剂盒

Soil Alkaline Phosphatase Assay Kit

微量法

货号: AK173

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK173-A	42mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK173-B	粉剂×1 瓶	4℃保存; 用前加 100mL 蒸馏水充分溶解。
AK173-C	5 mL×1 瓶	4℃保存;
AK173-D	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前加 576μL 无水乙醇 (自备), 24μL 蒸馏水充分溶解。(变褐色后不能再使用)
AK173-标准 0.5umol/ml	1mL×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: 土壤碱性磷酸酶 (Soil Alkaline Phosphatase, S-AKP/ALP) 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。此为土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 检测试剂盒。

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。

自备用品:

可见光度计/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、无水乙醇和甲苯。

催化反应:

- 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 400μL AK173-A 并且摇匀后, 置于 37℃恒温培养箱, 开始计时, 催化反应 24h; 到时时迅速加入 1mL AK173-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。

显色反应:

- 分光光度计/酶标仪预热 30 min, 调节波长到 660 nm, 蒸馏水调零。
- 取微量玻璃比色皿/96 孔板加入下列试剂:

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
AK173-C	20	20	20
AK173-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 25℃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一次。

S-ALP 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。

$$S\text{-AKP/ALP (U/g)} = [C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})] \times V \text{ 总} \div W \div T \times 1000 = 725 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

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, 24 h=1 d; 1000: 单位换算系数, 1μmol=1000nmol。