

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 (0.1umol/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°C 中每克土壤每天释放 1nmol 酚为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-ACP (U/g)} &= [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times V_{\text{总}} \times 1000 \div W \div T \\ &= 125 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div W \end{aligned}$$

注: C 标准液: 0.1 $\mu\text{mol/mL}$; 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, 1 μmol =1000nmol。