

土壤碱性磷酸酶（soil alkaline phosphatase, S-AKP/ALP）活性测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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。

试剂组成和配制：

产品名称	SSQ048-50T/48S	Storage
试剂一：液体	1 瓶	4℃避光
试剂二：粉剂	1 瓶	4℃
试剂三：液体	1 瓶	4℃
试剂四：粉剂	1 瓶	4℃避光
标准品：液体	1 瓶	4℃
说明书	一份	

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃保存。用前加 50ml 蒸馏水充分溶解。

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×1 瓶，0.5μmol/ml 苯酚标准液，4℃保存。

自备仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、37℃恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、冰、蒸馏水、无水乙醇和甲苯。

催化反应：

称取风干混匀土壤约 0.1g，加入 50μl 甲苯（自备），轻摇 15min；加 400μl 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。8000g，25℃离心 10min，取上清液置于冰上待测。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

显色反应：

1. 分光光度计预热 30 min，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 μ l 蒸馏水，100 μ l 试剂三，20 μ l 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 830 μ l，混匀后 25℃ 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 μ l 标准液，100 μ l 试剂三，20 μ l 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 830 μ l，混匀后 25℃ 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 μ l 上清液，100 μ l 试剂三，20 μ l 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 830 μ l，混匀后 25℃ 静置 30 min，于 660 nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

注意事项：

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 1 μ mol 酚为 1 个酶活单位。

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

C 标准液：0.5 μ 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，24 h=1 d。

