

土壤酸性磷酸酶 (S-ACP) 活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10094

规格: 100T/96S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 42 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存
试剂四	粉剂×1 支	4°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂二: 用前加 100 mL 蒸馏水充分溶解;
- 2、试剂四: 临用前加 576 μ L 无水乙醇 (自备), 24 μ L 蒸馏水充分溶解, 避光保存 (变褐色后不能再使用);
- 3、标准品: 0.5 μ mol/mL 苯酚标准液。

产品说明:

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。

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。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

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°C 恒温培养箱、分析天平、研钵、可调式移液器、冰、蒸馏水、乙醇和甲苯。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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°C 恒温培养箱, 开始计时, 催化反应 24h; 到时间后迅速加入 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。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长到 660nm, 蒸馏水调零。

2. 空白管：取微量玻璃比色皿/96 孔板，加入 10 μ L 试剂一，40 μ L 试剂三，4 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 146 μ L，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 空白管。

3. 标准管：取微量玻璃比色皿/96 孔板，加入 10 μ L 标准液，40 μ L 试剂三，4 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 146 μ L，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 标准管。

4. 测定管：取微量玻璃比色皿/96 孔板，加入 10 μ L 上清液，40 μ L 试剂三，4 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 146 μ L，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

注意：空白管和标准管只需要测定 1-2 次。

三、S-ACP 活性计算

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C 中每克土壤每天释放 1nmol 酚为 1 个酶活单位。

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

C 标准液: 0.5 μ mol/mL; V 总: 催化体系总体积, 1.45mL; W: 土壤样本质量, g; T: 催化反应时间, 24h=1d; 1000: 单位换算系数, 1 μ mol=1000nmol。

相关发表文献：

[1] Liu B, Wang S, Wang J, et al. The great potential for phytoremediation of abandoned tailings pond using ectomycorrhizal *Pinus sylvestris*[J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 719: 137475.

[2] Hou Q, Wang W, Yang Y, et al. Rhizosphere microbial diversity and community dynamics during potato cultivation[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2020, 98: 103176.

参考文献：

[1] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京：科学出版社，1982