

土壤酸性磷酸酶 (S-ACP) 活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：AC10093

规格：50T/48S

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 21 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 11 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	粉剂×2 支	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 瓶	2-8°C保存

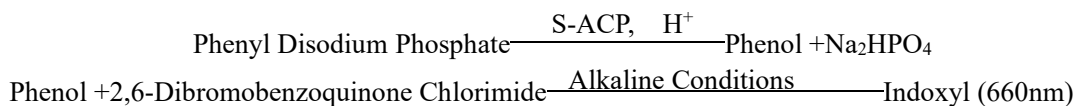
溶液的配制：

- 1、试剂二：用前加 50 mL 蒸馏水充分溶解，2-8°C保存 8 周；
- 2、试剂四：临用前取 1 瓶加 576 μ L 无水乙醇（自备），24 μ L 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂可以 2-8°C保存 2 周（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、1mL 玻璃比色皿、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、研钵、可调式移液器、冰、蒸馏水、30-50 目筛、乙醇和甲苯（不允许快递）。

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）

1. 新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干，过 30~50 目筛。
2. 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 水浴锅/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。8000rpm，25°C 离心 10min，取上清液置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 660nm，蒸馏水调零。
2. 空白管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 50 μ L 试剂一，200 μ L 试剂三，20 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 730 μ L，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 空白管。空白管只需做 1-2 次。
3. 标准管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 50 μ L 标准液，200 μ L 试剂三，20 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 730 μ L，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 标准管。标准管只需做 1-2 次。
4. 测定管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 50 μ L 上清液，200 μ L 试剂三，20 μ L 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 730 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

相关系列产品：

AC10121/AC10122 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测试剂盒

AC10087/AC10088 土壤多酚氧化酶（S-PPO）活性检测试剂盒

AC10089/AC10090 土壤脲酶（S-UE）活性检测试剂盒