

土壤酸性磷酸酶 (S-ACP) 活性测定试剂盒说明书

(货号: G0304F 分光法 48 样)

一、产品简介:

土壤磷酸酶对土壤磷素的有效性具有重要作用,是评价土壤磷素生物转化方向和强度的指标,也与土壤碳、氮含量、有效磷含量和 pH 有一定的关系。

本试剂盒提供一种简单、灵敏、快速的检测方法。在酸性环境中,土壤酸性磷酸酶

(S-ACP) 催化磷酸对硝基苯酯 (PNPP) 生成黄色对硝基苯酚 (PNP), 该产物在 405nm 处有最大吸收峰。通过检测 PNP 在 405nm 下的增加速率, 即可得到 S-ACP 酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 55mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×2 瓶	4℃保存	每瓶临用前甩几下使粉体落入底部, 每瓶再加 5.5mL 试剂一充分溶解, 现配现用, 一周内用完。
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、蒸馏水、甲苯。

四、土壤酸性磷酸酶 (S-ACP) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样或干土 (风干或者 37 度烘箱风干), 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

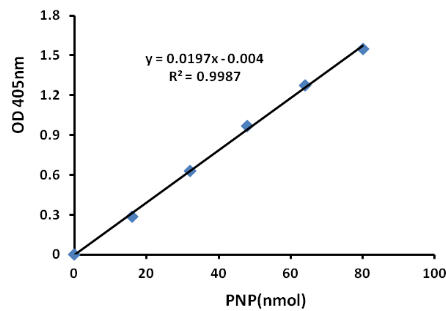
2、上机检测:

- ① 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长到 405nm, 蒸馏水调零。
- ② 在离心管中依次加入下列试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 (只做一次)
土样	0.1g 鲜土或 0.05g 干土	0.1g 鲜土或 0.05g 干土	
甲苯	10	10	10
试剂一	290	490	290
试剂二	200		200
混匀, 37℃ (水浴锅或恒温培养箱) 振荡反应 1h			
试剂三	300	300	300
混匀, 12000rpm 室温离心 10min, 上清液全部转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 405nm 下读取各管吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ (每个测定管需设一个对照管)。			

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.0197x - 0.004$ ；x 是 PNP 摩尔质量 (nmol)，y 是 ΔA 。



2、定义：每克土壤每小时水解 PNPP 产生 1nmol 对硝基苯酚 (PNP) 为一个酶活单位。

$$S\text{-ACP}(\text{nmol/h/g 土样}) = [(\Delta A + 0.004) \div 0.0197] \div W \div T \times D = 50.8 \times (\Delta A + 0.004) \div W \times D$$

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---土壤样品质量，g；

T---催化反应时间，1h；

PNP 相对分子质量---139.11。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 (10 $\mu\text{mol/mL}$)：向标准品 EP 管里面加入 1.4mL 蒸馏水超声溶解，若有结晶析出，需 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴至完全溶解。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 1.6, 3.2, 4.8, 6.4, 8 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管中直接加入：10 μL 标准品+490 μL 试剂一+300 μL 试剂三，混匀，取出全部上清液至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 405nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。