

土壤酸性磷酸酶活性测定试剂盒（ACP）

可见分光光度法

注意：正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

货号：BC0140

规格：50T/48S

产品内容：

试剂一：液体20mL×1瓶，4°C避光保存。

试剂二：粉剂×1瓶，4°C保存。用前加50mL蒸馏水充分溶解。

试剂三：液体5mL×1瓶，4°C保存。

试剂四：粉剂×1瓶，4°C避光保存。临用前加1152 μ L无水乙醇（自备），48 μ L蒸馏水充分溶解。（变褐色后不能再使用）

标准品：液体1mL×1瓶，0.5 μ mol/mL苯酚标准液，4°C保存。

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。

试验中所需的仪器和试剂：

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

操作步骤：

一、粗酶液提取：

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；到时时迅速加入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30 min以上，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，混匀后室温静置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，混匀后室温静置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，混匀后室温静置30 min，于660 nm测定吸光度，记为A测定管。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

三、S-ACP活性计算：

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。

$$S\text{-ACP (nmol/d/g)} = [C\text{标准液} \times (A\text{测定管} - A\text{空白管}) \div (A\text{标准管} - A\text{空白管})] \times V\text{总} \\ \times 1000 \div W \div T$$

$$= 725 \times (A\text{测定管} - A\text{空白管}) \div (A\text{标准管} - A\text{空白管}) \div W$$

C标准液: 0.5 $\mu\text{mol/mL}$; 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, 24 h=1 d; 1000: 单位换算系数, 1 μmol =1000nmol。