

土壤酸性磷酸酶（S-ACP）活性检测试剂盒说明书

微量法

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：BC0145

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 42 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	粉剂×2 支	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

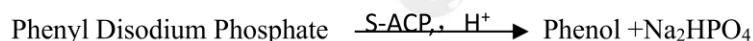
溶液的配制：

- 1、试剂二：用前加 100 mL 蒸馏水充分溶解，2-8℃保存 8 周；
- 2、试剂四：临用前取 1 瓶加 576 μL 无水乙醇（自备），24 μL 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂可以 2-8℃保存 2 周（变褐色后不能再使用，一瓶即可以实验 100T，为延长反应时间故多给一瓶）；
- 3、标准品：0.5 μmol/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。

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、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、研钵、可调式移液器、30-50 目筛、冰、蒸馏水、乙醇（>98%，AR）和甲苯（>98%，AR）。

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℃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℃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。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，分光光度计蒸馏水调零。
2. 空白管：取微量玻璃比色皿/96 孔板，加入 10μL 试剂一，40μL 试剂三，4 μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 146μL，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：取微量玻璃比色皿/96 孔板，加入 10μL 标准液，40μL 试剂三，4μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 146μL，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：取微量玻璃比色皿/96 孔板，加入 10μL 上清液，40μL 试剂三，4μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 146μL，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℃中每克土壤每天释放 1nmol 酚为 1 个酶活单位。

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

C 标准液：0.5 μmol/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，1μmol=1000nmol。

相关发表文献：

[1] Muhammad I, Yang L, Ahmad S, Zeeshan M, Farooq S, Ali I, Khan A, Zhou XB. Irrigation and Nitrogen Fertilization Alter Soil Bacterial Communities, Soil Enzyme Activities, and Nutrient Availability in Maize Crop. Front Microbiol. 2022 Feb 3; 13:833758. doi: 10.3389/fmicb.2022.833758. PMID: 35185852; PMCID: PMC8851207.

[2] Pu Q, Zhang K, Poulain AJ, Liu J, Zhang R, Abdelhafiz MA, Meng B, Feng X. Mercury drives microbial community assembly and ecosystem multifunctionality across a Hg contamination gradient in rice paddies. J Hazard Mater. 2022 Aug 5; 435:129055. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.129055. Epub 2022 May 4. PMID: 35650726.

[3] Feng L, Gao Z, Ma H, He S, Liu Y, Jiang J, Zhao Q, Wei L. Carbonate-bound Pb percentage distribution in agricultural soil and its toxicity: Impact on plant growth, nutrient cycling, soil enzymes, and functional genes. J Hazard Mater. 2023 Jun 5; 451:131205. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.131205. Epub 2023 Mar 13. PMID: 36934701.

[4] Rao G, Yan SZ, Song WL, Lin D, Chen YJ, Chen SL. Distribution, assembly, and interactions of soil microorganisms in the bright coniferous forest area of China's cold temperate zone. Sci Total Environ. 2023 Nov 1; 897:165429. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.165429. Epub 2023 Jul 10. PMID: 37437627.

参考文献：

[1] Guan S. Soil Enzyme and Its Research Method [M]. Beijing: Science Press, 1982.

[2] Powell MEA, Smith MJH. The Determination of Serum Acid and Alkaline Phosphatase Activity with 4-Aminoantipyrine (A.A.P.) [J]. Journal of Clinical Pathology, 1954, 7: 245-248.

[3] Belfield A, Goldberg DM. Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4-amino-antipyrine[J]. Enzyme, 1971, 12(5): 561-573.

相关系列产品：

BC0280/BC0285 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒

BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒

BC0120/BC0125 土壤脲酶 (S-UE) 活性检测试剂盒

