

## 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）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：**BC0280

**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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

| 试剂名称 | 规格           | 保存条件   |
|------|--------------|--------|
| 试剂一  | 液体 21 mL×1 瓶 | 2-8℃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 |

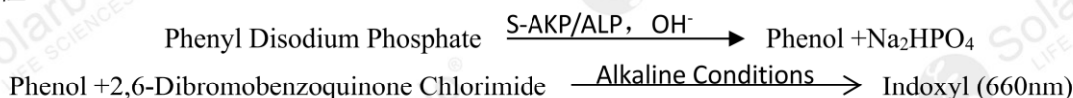
溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加 50 mL 蒸馏水充分溶解，2-8℃保存 8 周。
2. 试剂四：临用前取 1 支加 576 μL 无水乙醇（自备），24 μL 蒸馏水充分溶解。用不完的试剂 2-8℃保存 2 周（变褐色后不能再使用）
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化合物矿化的酶，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。通常按照其最适pH范围，分为碱性、中性和酸性三种类型磷酸酶。

碱性环境中，S-AKP/ALP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-AKP/ALP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、1mL玻璃比色皿、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、冰、研钵、蒸馏水、30-50目筛、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；到时时迅速加入 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 **50μL 试剂一**，100μL 试剂三，20μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 830μL，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 空白管。（空白管只需要测定 1-2 次）
3. 标准管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 **50μL 标准液**，100μL 试剂三，20μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 830μL，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 标准管。（标准管只需要测定 1-2 次）
4. 测定管：取 1mL 玻璃比色皿，加入 **50μL 上清液**，100μL 试剂三，20μL 试剂四，充分混匀，显色后再加蒸馏水 830μL，混匀后室温静置 30min，于 660nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

## 三、S-ALP/ALP 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。

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

C 标准液：0.5μmol/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，24 h=1d；

1000：单位换算系数，1μmol=1000nmol。

## 相关发表文献：

- [1] Wang S, Song M, Wang C, Dou X, Wang X, Li X. Mechanisms underlying soil microbial regulation of available phosphorus in a temperate forest exposed to long-term nitrogen addition. *Sci Total Environ.* 2023 Dec 15;904:166403. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.166403. Epub 2023 Aug 18. PMID: 37597553.
- [2] Huang J, Ye J, Gao W, Liu C, Price GW, Li Y, Wang Y. Tea biochar-immobilized *Ralstonia Beul-1* increases nitrate nitrogen content and reduces the bioavailability of cadmium and chromium in a fertilized vegetable soil. *Sci Total Environ.* 2023 Mar 25;866:161381. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.161381. Epub 2023 Jan 5. PMID: 36621509.
- [3] Niu T, Xie J, Li J, Zhang J, Zhang X, Ma H, Wang C. Response of rhizosphere microbial community of Chinese chives under different fertilization treatments. *Front Microbiol.* 2022 Nov 21;13:1031624. doi: 10.3389/fmicb.2022.1031624. PMID: 36478855; PMCID: PMC9719922.
- [4] Chen W, Guo X, Guo Q, Tan X, Wang Z. Long-Term Chili Monoculture Alters Environmental Variables Affecting the Dominant Microbial Community in Rhizosphere Soil. *Front Microbiol.* 2021 Jul 1;12:681953. doi: 10.3389/fmicb.2021.681953. PMID: 34276615; PMCID: PMC8281244.
- [5] Guan TK, Wang QY, Li JS, Yan HW, Chen QJ, Sun J, Liu CJ, Han YY, Zou YJ, Zhang GQ. Biochar immobilized plant growth-promoting rhizobacteria enhanced the physicochemical properties, agronomic characters and microbial communities during lettuce seedling. *Front Microbiol.* 2023 Jul 5;14:1218205. doi: 10.3389/fmicb.2023.1218205. PMID: 37476665; PMCID: PMC10354297.

## 参考文献：

- [1] Guan S. Soil Enzyme and Its Research Method [M]. Beijing: Science Press, 1982.
- [2] Belfield A, Goldberg DM. Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4-amino-antipyrine[J]. *Enzyme*, 1971, 12(5): 561-573.
- [3] 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.



**相关系列产品:**

BC0120/BC0125 土壤脲酶 (S-UE) 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

BC0160/BC0165 土壤  $\beta$ -葡萄糖苷酶 (S- $\beta$ -GC) 活性检测试剂盒

BC0890/BC0895 土壤过氧化物酶 (S-POD) 活性检测试剂盒

