

## Soil Alkaline Phosphatase (S-AKP/ALP) Activity Assay Kit

### 土壤碱性磷酸酶(S-AKP/ALP)活性检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL886B	土壤碱性磷酸酶(S-AKP/ALP)活性检测试剂盒	96T

#### 产品简介:

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。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。

本试剂盒提供一种简单、灵敏、快速的检测方法。在碱性环境中，土壤碱性磷酸酶(S-ALP)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-ALP 酶活性大小。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×4 瓶	4°C保存	每瓶临用前甩几下使粉末落入底部，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	60mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

#### 使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

##### 一、样本准备:

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。

##### 二、样品测定:

1. 酶标仪预热 30min，调节波长到 405 nm。
2. 在离心管中依次加入：

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°C（水浴锅或恒温培养箱）振荡反应 1h			

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

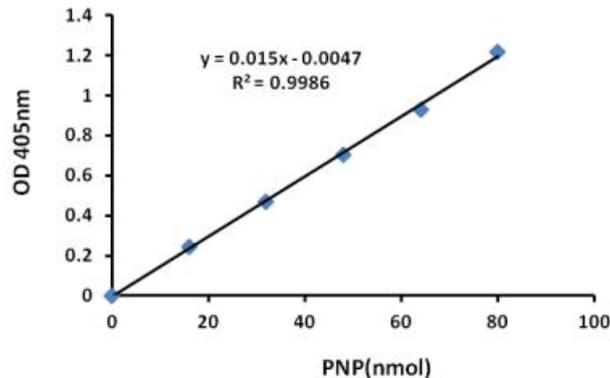


试剂三	300	300	300
混匀，12000rpm 室温离心 10min，取 200μL 上清液全部转移至 96 孔板中，于 405nm 下读取各管吸光值 A， $\Delta A=A$ 测定-A 对照 -A 空白（每个测定管需设一个对照管）。			

- 【注】：1. 最后一步检测时，若有结晶析出，需要 37°C 复溶再读取吸光值。  
 2. 若  $\Delta A$  在零附近徘徊，可延长 37°C 的孵育时间 T（如增至 4 小时或更长），或增加土样质量 W（如增至 0.2g）。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。  
 3. 若测定管 A 值大于 1.5 或  $\Delta A$  大于 1.5，可缩短 37°C 的孵育时间 T（如减至 0.5 小时或更短）。则改变后 T 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液（包括测定管、对照管和空白管）同时用蒸馏水进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。  
 4. 若同时检测一大批同一背景下土壤样本（如都是黄土，黑土，红土，黄土等），可做三次样本自身对照管（取平均值作为这批土壤样本的对照管），可从称样到检测步骤节省检测时间。

### 三、结果计算：

1. 标准曲线  $y = 0.015x - 0.0047$ ；x 是 PNP 摩尔质量（nmol），y 是  $\Delta A$ 。



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。

$$S\text{-ALP}(\text{nmol/h/g 土样}) = [(\Delta A + 0.0047) \div 0.015] \div W \div T \times D = 66.7 \times (\Delta A + 0.0047) \div W \times D$$

W---土壤样品质量，g

D---稀释倍数，未稀释即为 1

T---催化反应时间，1 h

PNP 对分子质量---139.11

#### 附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（10μmol/mL）：向标准品离心管里面加入 1.4mL 蒸馏水超声溶解，若有结晶析出，需 37°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 μmol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在离心管中直接加入：10μL 标准品+490μL 试剂一+300μL 试剂三，混匀，取 200μL 至 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。

#### 注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 有效期：

4°C 保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

