土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测。

2.本试剂盒仅用于科研。

3.在显色步骤中，在 96 孔板中依次加入试剂三、试剂四和蒸馏水时，应充分吹打混匀，避免产生误差。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
甲苯	自备 6 mL	常温避光	棕色瓶保存，分析纯
试剂一	22 mL×1	4℃	
试剂二	粉剂×1	4℃	临用前加入 110 mL 超纯水/蒸馏水溶解，4℃可保存 8 周
试剂三	2.4 mL×1	4℃	
试剂四	粉剂×2	4℃避光	临用前取其中 1 瓶加入 1 mL 试剂五溶解，剩下的溶液未变褐色之前均可使用，因保存时间短多给 1 瓶备用
试剂五	2 mL×1	4℃避光	
标准品	1 mL×1	4℃	1 mg/mL 的标准溶液。若重新做标曲则用到该试剂，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

四、样品制备

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 60 目筛备用。

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 660 nm 处。

2.在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	空白管
风干土样（g）	0.1	-

甲苯（μL）	50	-
轻摇混匀，静置 15min，加入下列试剂		
试剂一（μL）	200	-
摇匀后，置于 37℃恒温培养箱或水浴锅，催化反应 24h 时，快速加入下列试剂		
试剂二（μL）	1000	-
充分混匀，8000 g，常温离心 10 min，取上清液置于冰上待测		

3.在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	空白管
上清液	10	-
超纯水或蒸馏水（μL）	-	10
试剂三（μL）	20	20
试剂四（μL）	8	8
充分混匀，显色		
超纯水或蒸馏水（μL）	162	162
混匀后常温静置 35 min，取 200 μL 于 96 孔板中，在 660 nm 下测定吸光度值 A，记为 A 测定，A 空白，计算ΔA=A 测定管-A 空白管。空白管只需测定 2-3 管。		

六、计算

1.标准方程

标准条件下测得回归方程为 y =0.5036x+0.0029，R^2=0.9995，y 为标准品浓度（μg/mL），x 为吸光值。

2.单位定义

每天每 g 土样中产生 1 μg 酚定义为一个酶活力单位 U。

土壤碱性磷酸酶（S-ALP/AKP）活性（μg/g/d 土样）=125×（ΔA-0.0029）÷0.5036÷T÷W=248.2×（ΔA-0.0029）÷W

注：W：土壤样重，g；T：反应时间，24 h=1 d；125：分取倍数。

七、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。