



## 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒说明书

规格: 50 管/24 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 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 1.5 mL	常温避光	棕色瓶保存, 分析纯
试剂一	6 mL×1	4°C	
试剂二	粉剂×1	4°C	临用前加入 30 mL 超纯水/蒸馏水溶解, 4°C 可保存 8 周
试剂三	0.6 mL×1	4°C	
试剂四	粉剂×2	4°C 避光	临用前取其中 1 瓶加入 250 μL 试剂五充分溶解, 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°C 避光	

### 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°C 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 15 min，加入下列试剂

试剂一 (μL)	200	-
摇匀后，置于 37°C恒温培养箱或水浴锅，催化反应 24 h 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，记着 A 测定，A 空白，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。注意：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  $y = 0.5036x + 0.0029$ ， $R^2 = 0.9995$ ，x 为标准品浓度 (μg/mL)，y 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) =  $125 \times (\Delta A - 0.0029)$**

**$\div 0.5036 \div T \div W = 248.21 \times (\Delta A - 0.0029) \div W$**

注：W：土壤样重，0.1 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。