CheKine™ 土壤酸性磷酸酶（S-ACP）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB4040　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

	适用样本：土壤
	保质期：4℃，避光保存 6 个月

01 背景与原理

土壤磷酸酶（S-ACP，EC 3.1.3.2）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含量、氮含量、有效磷含量和 pH 的显著影响，根据最适 pH 范围，通常分为酸性、中性和碱性三种类型。

本试剂盒检测原理是 S-ACP 能够在酸性环境中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表征土壤酸性磷酸酶的活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent Ⅰ	25 mL	50 mL	4℃，避光保存
Reagent Ⅱ	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
Reagent Ⅲ	1.25 mL	2.5 mL	4℃
Reagent Ⅳ	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Standard	1 mL	1 mL	4℃

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 660 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	无水乙醇、去离子水、甲苯	配制试剂/检测用
其他	恒温培养箱、恒温摇床、30-50 目筛、离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

注意：本试剂盒组分均有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent Ⅰ	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Working Reagent Ⅱ	临用前配制；48 T 加入 60 mL 去离子水，96 T 加入 120 mL 去离子水，充分溶解待用	未用完的试剂 4℃保存 2 个月
Reagent Ⅲ	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent Ⅳ	临用前配制；48 T 加入 288 μL 无水乙醇、12 μL 去离子水，96 T 加入 576 μL 无水乙醇、24 μL 去离子水，充分溶解待用	未用完的试剂 4℃避光保存 2 周，**若变成褐色则不能使用**
Standard	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。称取 0.1 g 风干土样于 1.5 mL EP 管，加入 50 μL 甲苯，轻摇 15 min 使其混匀；
- 加入 0.4 mL Reagent Ⅰ充分混匀，置于 37℃恒温培养箱并开始计时，催化反应 24 h；到时后迅速加入 1 mL Working Reagent Ⅱ充分混匀，以终止酶催化反应；
- 8000 g，25℃离心 10 min，取上清置于冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 660 nm。
2. **检测体系配制**：在 96 孔板中按照如下方式操作，空白孔和标准孔只需做 1 次。

试剂	测定孔（μL）	空白孔（μL）	标准孔（μL）
样本上清	10	0	0
Standard	0	0	10
去离子水	0	10	0
Reagent Ⅲ	20	20	20
Working Reagent Ⅳ	4	4	4
混匀，显色后立即加入去离子水			
去离子水	166	166	166

3. **吸光度检测：**混匀后 25℃静置 30 min，记录 660 nm 处吸光值。测定孔记为 $A_{测定}$，空白孔记为 $A_{空白}$，标准孔记为 $A_{标准}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn]>进入“**技术中心**”>查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

2. S-ACP 活性的计算

单位的定义：37℃中每 g 土壤每天释放 1 μmol 酚为 1 个酶活单位。

S-ACP (U/g 土样)=$(C_{标准}\times\Delta A_{测定}\div\Delta A_{标准})\times V_{总}\div W\div T$**=0.725×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W**

$C_{标准}$：0.5 μmol/mL；$V_{总}$：催化体系总体积，1.45 mL；W：土壤样品质量，0.1 g；T：催化反应时间，24 h=1d。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 经 37℃烘箱风干后的新鲜土样，按上述步骤检测，使用 96 孔板测得$\Delta A_{测定}$=0.436-0.095=0.341，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$=0.236-0.095=0.141，计算活性得：S-ACP (U/g 土样)**=0.725×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W**=17.53 U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本 $A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

如果样本 $A_{测定}$>0.8，可减少提取用样本量。如果样本的 $A_{测定}$<0.12，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4010	CheKine™ 土壤硝酸还原酶（S-NR）活性检测试剂盒（微量法）
KTB4020	CheKine™ 土壤亮氨酸氨基肽酶（S-LAP）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 土壤酸性磷酸酶（S-ACP）活性检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB4040）

样本处理



自然风干或37℃烘箱风干，过30-50目筛
0.1 g加入50 μL甲苯轻摇15 min
加入0.4 mL Reagent Ⅰ，37℃催化反应24 h
迅速加入1 mL Working Reagent Ⅱ



8000 g，25℃离心10 min
取上清

体系配置



去离子水 10 μL



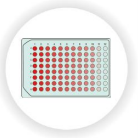
上清液 10 μL



Standard 10 μL

每孔加入Reagent Ⅲ 20 μL
每孔加入Working Reagent Ⅳ 4 μL
混匀，显色后立即每孔加入去离子水 166 μL
混匀后25℃静置30 min

数据检测



测定660 nm处的吸光度
结果计算