

CheKine™ 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB4041

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 土壤样本
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

土壤磷酸酶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土壤碱性磷酸酶 (Soil alkaline phosphatase, S-AKP/ALP) (EC 3.1.3.1) 能够在碱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碱性磷酸酶的活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	24 mL	48 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	去离子水、无水乙醇/甲苯	试剂配制/处理土壤样本
其他	恒温摇床、制冰机、台式离心机、30-50 目筛、 可调式移液枪及枪头	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
本公司技术人员（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 Working Reagent IV 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℃保存数周。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。

- 土壤样本：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，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℃恒温摇床并开始计时，催化反应 24 h。
到时时迅速加入 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：空白孔和标准孔只需测定 1 次。在 96 孔板中按照如下方式操作：

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，测定 660 nm 处吸光度，分别记为 A_{测定}、A_{空白}、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[\[https://www.abbkine.cn\]](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. 样本 S-AKP/ALP 活性计算

活性单位定义：37℃中每 g 土壤每天释放 1 μmol 酚为 1 个酶活单位。

$S\text{-AKP/ALP (U/g)} = (C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}) \times V_{总} \div W \div T = 0.725 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$

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 土壤，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白} = 0.326 - 0.094 = 0.232$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.218 - 0.094 = 0.124$ 。测得 S-AKP/ALP (U/g)= $0.725 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 13.565$ U/g。

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™ 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB4041)

样本处理



土壤样本

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℃恒温摇床并开始计时，催化反应24 h 到时时迅速加入1 mL Working Reagent II充分混匀，以终止酶催化反应



8000 g，室温离心10 min，取上清

体系配置



测定孔

样本上清 10 μL
Reagent III 20 μL
Working Reagent IV 4 μL



空白孔

去离子水 10 μL
Reagent III 20 μL
Working Reagent IV 4 μL



标准孔

Standard 10 μL
Reagent III 20 μL
Working Reagent IV 4 μL

混匀，显色后立即加入去离子水

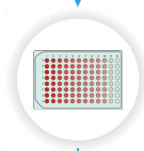
去离子水 166 μL

去离子水 166 μL

去离子水 166 μL

混匀后25℃静置10 min

数据检测



测定660 nm吸光度结果计算