

Soil phytase Activity Assay Kit

土壤植酸酶试剂盒说明书

货号:BN72577 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

植酸酶 (phytase, EC.3.1.3.8) 是催化植酸及其盐类水解为肌醇与磷酸 (盐) 的一类酶的总称, 属磷酸单酯水解酶, 能将食品和饲料中植酸及其盐转化为可供有机体利用的有效磷, 降低粪便中的磷含量, 减轻对环境的污染, 改善营养成分的吸收和利用, 因此具有极其广泛的研究和应用价值。

土壤植酸酶在一定温度和 pH 值条件下, 水解底物植酸钠生成无机磷与肌醇衍生物, 无机磷在酸性环境中与钼酸铵反应生成蓝色复合物, 通过在 700nm 处检测该有色物质的生成速率即可计算植酸酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 28mL 试剂一, 充分溶解备用,
试剂三	液体 22mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	粉剂 mg×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 24mL 蒸馏水, 充分溶解备用。
试剂五	粉剂 mg×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 6mL 蒸馏水, 充分溶解备用。
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

反应 mix 的制备 (现配现用): 试剂四: 五按照 4:1 的比例混合, 可根据样本数量配制需要量, 若一次性用完, 可把试剂五一次性全部倒入试剂四中, 混合备用。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、低温离心机、恒温水浴锅, 可调式移液器。

四、土壤植酸酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样本情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样风干或者 30°C烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 700nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土壤	0.1g	0.1g

试剂一		500
试剂二	500	
混匀，37℃振荡培养 1 小时		
试剂三	100	100
混匀，室温条件下 10000rpm，离心 5min。上清液待测。		

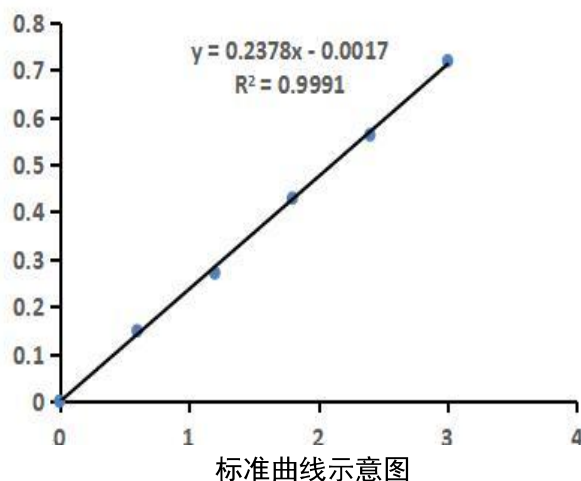
③ 显色反应，在 EP 管中依次加入：

上清液	150	150
试剂三	75	75
反应 mix	225	225
混匀，室温（25℃）静置 15min（若出现浑浊现象，则可于室温 10000rpm，离心 5min），取 200μL 澄清液体至 96 孔板中，于 700nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个测定管需设一个对照管）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.2378x - 0.0017$ ，x 是标准品摩尔浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ），y 是 ΔA 。



说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、酶活定义：37℃条件下，PH5.5 的条件下，每克土样每小时释放出 $1\mu\text{mol}$ 的无机磷为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤植酸酶活性}(\mu\text{mol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0017) \div 0.2378 \times V1 \div W \div T \\ &= 2.52 \times (\Delta A + 0.0017) \div W \end{aligned}$$

V1---孵育阶段的反应总体积，0.6mL； T---反应时间，1h； W---样本质量，g。