

## 土壤植酸酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

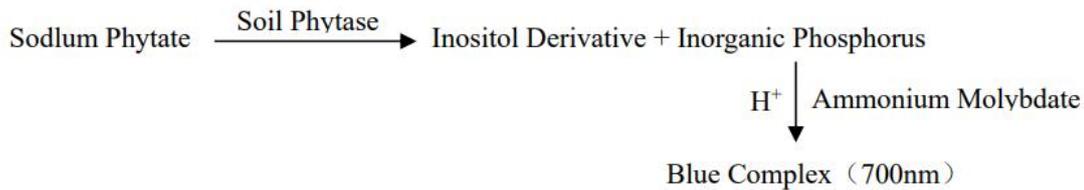
产品货号：BA2214

产品规格：50T/24S

### 产品简介：

植酸酶（Phytase）又叫肌醇六磷酸酶，是一种蛋白质和糖的结合酶，植酸酶可以分解植酸产生无机磷和肌醇，极大的提高生物对养分的利用率。土壤植酸酶主要来自于土壤中的微生物，在磷素循环中起着重要作用，土壤植酸酶在土壤改良和农业可持续发展领域具有较强的应用前景。

在一定的环境条件下，土壤植酸酶可以分解植酸钠（肌醇六磷酸十二钠）产生无机磷和肌醇衍生物，在酸性条件下，无机磷和钼酸铵显色剂发生反应，产生蓝色的钼蓝物质，其在700nm有特征吸收峰，通过测定无机磷的含量，可计算出土壤植酸酶的活性。



**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体2.5mL×1瓶（自备）	2-8℃
试剂二A	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二B	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：甲苯，需自备。
2. 试剂二：临用前将试剂二B全部倒入试剂二A中，充分震荡溶解，用不完的试剂2-8℃可保存4周。
3. 试剂三：临用前加入7mL蒸馏水充分溶解，再将枪头伸入液面下缓慢加入1.89mL浓硫酸，用不完的试剂2-8℃可保存4周。
4. 试剂四：临用前加入35mL蒸馏水充分溶解，再加入50μL浓硫酸，用不完的试剂2-8℃可保存4周。
5. 工作液：临用前根据测定数量将试剂三：试剂四=1mL：5mL（约12T，可根据样本量按比例调整）的比例混匀，配制后于2-8℃可保存3天。
6. 标准品：10μmol/mL无机磷标准液。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、研钵、30-50目筛、甲苯、浓硫酸、1mL玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干，过30~50目筛。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至700nm。用蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：将10μmol/mL无机磷标准液用蒸馏水稀释至1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078125、0.039、0.02、0.01、0.005μmol/mL备用。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

3. 标准溶液稀释可参考下表:

序号	稀释前浓度 (μmol/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (μmol/mL)
1	10	200	1400	1.25
2	1.25	700	700	0.625
3	0.625	700	700	0.3125
4	0.3125	700	700	0.15625
5	0.15625	700	700	0.078125
6	0.078125	700	700	0.039
7	0.039	700	700	0.02
8	0.02	700	700	0.01
9	0.01	700	700	0.005

备注: 实验中每个标准管需 500μL 标准溶液。

4. 在 EP 管中按下表步骤加样:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
土样	0.05g	0.05g	-	-
试剂一	35	35	-	-
振荡, 用试剂一将土样浸湿 (潮湿状态即可), 室温放置 15min。				
试剂二	835	-	-	-
混匀, 37°C 水浴/恒温培养 24h, 沸水浴 10min				
试剂二	-	835	-	-
10000g, 25°C 离心 5min, 取上清				
标准液	-	-	500	-
蒸馏水	-	-	-	500
上清液	500	500	-	-
工作液	500	500	500	500

室温静置 15min, 于 700nm 处测定吸光值, 分别记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白。分别计算  $\Delta A$  测定 = A 测定 - A 对照,  $\Delta A$  标准 = A 标准 - A 空白 (标准曲线和空白管只需做 1-2 次, 每个测定管需设置一个对照管)。

### 三、土壤植酸酶活性的计算

#### 1. 标准曲线的绘制:

根据标准管的浓度 (x, μmol/mL) 和吸光度  $\Delta A$  标准 (y,  $\Delta A$  标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将  $\Delta A$  测定 (y,  $\Delta A$  测定) 代入公式计算样本浓度 (x, μmol/mL)。

#### 2. 土壤植酸酶活性计算:

单位定义: 37°C 下每 g 土壤每天在反应体系释放 1μmol 无机磷为 1 个酶活力单位。

土壤植酸酶活性 (U/g) =  $x \times V \text{ 反总} \div W \div T = 0.87x \div W$

V 反: 反应体系总体积, 0.87mL; W: 土壤质量, g; T: 反应时间, 24h=1d。

#### 注意事项:

- 为防止沸水浴 10min 过程中水分散失, 建议使用螺旋盖的离心管或用封口膜给 EP 管缠口。
- 如果  $\Delta A$  测定 < 0.01, 适当延长第一步 37°C 反应时间或加大样本量后, 重新测定。如果  $\Delta A$  测定 > 1.2, 建议将上清液用蒸馏水适当稀释后进行测定, 注意乘以稀释倍数。
- 结果于 30min 内测定完毕, 尽量保证所有样本测定时间的一致性。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com