



土壤植酸酶活性检测试剂盒

Phytase Assay Kit

微量法

产品编号: AK460M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
缓冲液	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK460-A	粉剂×1 瓶	4℃避光保存, 临用前加缓冲液50mL配制, 现用现配; 剩余试剂4℃保存一个月;
AK460-B	15mL×1 瓶	4℃保存;
显色剂	粉剂×7 瓶	4℃避光保存, 临用前根据用量每瓶加0.4mL 双蒸水溶解, 再加1.6mL AK460-B 混匀;
AK460-标准品	1ml×1 支 (10μmol/mL)	4℃保存。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 植酸酶 (Phytase) 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, 它可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。

原理: 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显色剂反应生成蓝色复合物, 在 700nm 处有特征吸收峰, 根据 700nm 处吸光值变化可计算得植酸酶活性。

自备用品:

分光光度计/酶标仪、96 孔板、天平、低温离心机、恒温水浴锅, 甲苯 (不允许快递)。

样品处理:

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 700nm, 蒸馏水调零。
2. 标准品: 临用前将 10μmol/mL 标准液用蒸馏水稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125μmol/mL 的标准溶液备用。
3. 样本测定, (在 EP 管中依次加入下列试剂):

	对照管	测定管	空白管	标准管
土样 (g)	0.03	0.03		
甲苯 (μL)	20	20		
振荡混匀, 室温放置 15min				
缓冲液 (μL)	500			
AK460-A (μL)		500		
混匀, 37℃孵育 24h, 10000g, 4℃离心 5min, 取上清				
上清 (μL)	100	100		
蒸馏水 (μL)			100	
标准溶液(μL)				100

显色剂 (μL)	100	100	100	100
混匀，静置 15min，测定 700nm 处吸光值，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管，计算 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。				

酶活性计算公式：

1. 标准曲线的绘制：根据标准管的浓度（x，mg/mL）和吸光度 ΔA 标准（y，ΔA 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定（y，ΔA 测定）带入公式计算样本浓度（x，mg/mL）。

2. 酶活测定：

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

植酸酶活性 (U/g 土样) = $x \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 17.33x$

注：V 反总：反应总体积，0.52mL；T：反应时间，24h=1d；W：样本质量，0.03g。

注意事项：

显色剂需要临用前根据用量配制，每一瓶是 5 个样本的用量，新配制的显色剂若有颜色则已经污染或者试剂过期，应放弃使用。