北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

# 土壤植酸酶（phytase）试剂盒说明书

**微量法 100T/48S**

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

## 测定意义

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。

## 测定原理

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。

## 自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、酶标仪、96 孔板、恒温水浴锅，甲苯（不允许快递）。

## 试剂的组成和配制

缓冲液：液体 60mL×1 瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1 瓶，4℃避光保存，**临用前加缓冲液 30mL 配制，现用现配；用不完的试剂 4℃保存一个月。**

试剂二：液体 15mL×1 瓶，4℃保存。

显色剂：粉剂×6 管，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 试剂二混匀。**

## 样本处理

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

## 测定操作表

| | 对照管 | 测定管 |
|---|---|---|
| 样本（g） | 0.03 | 0.03 |
| 甲苯 | 20 | 20 |
| 振荡混匀，室温放置 15min | | |
| 缓冲液（μL） | 500 | |
| 试剂一（μL） | | 500 |
| 混匀，37℃孵育 24h，10000g，4℃离心 5min，取上清 | | |
| 上清 | 100 | 100 |
| 显色剂（μL） | 100 | 100 |
| 混匀，静置 15min，测定 700nm 处吸光值，△A=A 测定管-A 对照管。每个测定管设一个对照管。 | | |

## 酶活性计算公式

标准曲线：$y = 0.8795x + 0.0084$，$R^2 = 0.9977$；x 为标准品浓度（μmol/mL），y 为吸光值△A。

**酶活性定义：**在 37℃，pH5.5 的条件下，每克土样每小时从 5mmol/L 的植酸钠溶液中释放出 1μmol 的无机磷为一个酶活力单位。

植酸酶活性（μmol/d /g 土样）=（△A-0.0084）÷0.8795×V 反总÷W÷T

=19.68×（△A-0.0084）

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

## 注意事项

1、显色剂需要临用前根据用量配制，每一瓶是 10 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。

2、ΔA 线性范围为 0.01-0.5。

