



## 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	60mL×1 瓶	4℃保存;
AK460-A	粉剂×1 瓶	4℃避光保存, 临用前加缓冲液30mL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×6 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。

※ 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:

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. 样本测定, (在 EP 管中依次加入下列试剂):

	对照管	测定管
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
显色剂 (μL)	100	100
混匀, 静置 15min, 测定 700nm 处吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。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  $\Delta A$ 。

**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/h/g 土样) =  $(\Delta A - 0.0084) \div 0.8795 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.82 \times (\Delta A - 0.0084)$

注：V 反总：反应总体积，0.52mL；T：反应时间，24h；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 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。
2.  $\Delta A$  线性范围为 0.01-0.5。