

## 土壤植酸酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

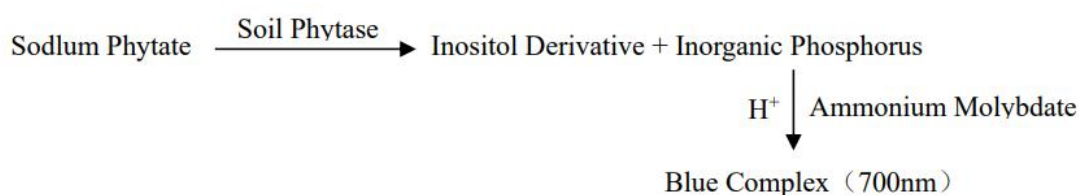
产品货号：BA2214

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、



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

0.02、0.01、0.005 $\mu\text{mol/mL}$  备用。

3. 标准溶液稀释可参考下表：

序号	稀释前浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )	标准液体积 ( $\mu\text{L}$ )	蒸馏水体积 ( $\mu\text{L}$ )	稀释后浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )
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 500 $\mu\text{L}$  标准溶液。

4. 在 EP 管中按下表步骤加样：

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	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 $^{\circ}\text{C}$ 水浴/恒温培养 24h，沸水浴 10min				
试剂二	-	835	-	-
10000g，25 $^{\circ}\text{C}$ 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 ( $x$ ,  $\mu\text{mol/mL}$ ) 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 ( $x$ ,  $\mu\text{mol/mL}$ )。

#### 2. 土壤植酸酶活性计算：

单位定义：37 $^{\circ}\text{C}$  下每 g 土壤每天在反应体系释放 1 $\mu\text{mol}$  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 $^{\circ}\text{C}$  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

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com