

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（ $\mu$ L）	500	
试剂一（ $\mu$ L）		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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。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°C, 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。

$$\begin{aligned} \text{植酸酶活性 } (\mu\text{mol/h/g 土样}) &= (\Delta A - 0.0084) \div 0.8795 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \\ &= 0.82 \times (\Delta A - 0.0084) \end{aligned}$$

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、 $\Delta A$ 线性范围为0.01-0.5。