

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S1038

Size: 100T/48S

土壤植酸酶 (phytase) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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。

三、需自备的仪器和用品:

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)

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
缓冲液	液体 60mL × 1 瓶	4°C 保存	—
试剂一	粉剂 × 1 瓶	4°C 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°C 保存一个月。
试剂二	液体 15mL × 1 瓶	4°C 保存	
显色剂	粉剂 × 6 管	4°C 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。

五、样本处理

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

六、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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。		

六、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 ($\mu\text{mol/mL}$) y 为吸光值 ΔA 。**酶活性定义:** 在 37℃, pH5.5 的条件下, 每克土样每天从 5mmol/L 的植酸钠溶液中释放出 1 μmol 的无机磷为一个酶活力单位。

植酸酶活性 ($\mu\text{mol/d/g}$ 土样) = $(\Delta A - 0.0084) \div 0.8795 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 19.68 \times (\Delta A - 0.0084)$

$V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.52mL; T : 反应时间, 1d; W : 样本质量, 0.03g。

八、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。