

土壤植酸酶测试盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|----------|------|------|
| SYHA3-C24 | 土壤植酸酶试剂盒 | 24T | 常量法 |
| SYHA3-C48 | | 48T | |

一、测定意义：

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。

二、测定原理：

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 660nm 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。

三、试剂组成：

| 试剂名称 | 试剂装量（24T） | 试剂装量（48T） | 保存条件 |
|---|--------------|--------------|--------|
| 甲苯 | 自备 | 自备 | 常温 |
| 试剂一 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 液体 50mL×1 瓶 | 液体 50mL×2 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二的配制： 临用前将试剂一粉剂加入到试剂二中（可吸取试剂二到试剂一瓶中反复冲洗），充分震荡溶解备用。 | | | |
| 试剂三 | 粉剂 ×1 瓶 | 粉剂 ×2 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂三配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 10mL，混匀充分溶解，现用现配。 | | | |
| 试剂四 | 粉剂 ×1 瓶 | 粉剂 ×2 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂四配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 10mL，混匀充分溶解，现用现配。 | | | |
| 试剂五 | 液体 10mL×1 瓶 | 液体 20mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 显色液的配制： 按双蒸水:试剂三:试剂四:试剂五=2:1:1:1 的比例配制，配好的定磷剂应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染。 | | | |
| 标准品 | 液体 1.5mL×1 瓶 | 液体 1.5mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |

| | | | |
|-------------|--|--|--|
| (10μmol/mL) | | | |
|-------------|--|--|--|

四、操作步骤：

样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

操作步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零。

2、将 10μmol/mL 的标准品用蒸馏水稀释成 0、0.05、0.1、0.2、0.5、

1、2μmol/mL 标准液进行标准曲线的制备。

3、培养反应（将试剂依次加入离心管中）：

| 试剂名称 | 测定管 | 对照管 |
|-----------------------------------|-----|-----|
| 土样（g） | 0.1 | 0.1 |
| 甲苯（μL） | 50 | 50 |
| 震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min | | |
| 试剂二（μL） | 800 | - |
| 混匀，37℃孵育 24h，沸水浴 10min | | |
| 试剂二（μL） | - | 800 |
| 混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。 | | |

3、显色反应（将试剂依次加入离心管中）：

| 试剂名称 | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|---|------|------|------|------|
| 上清液（μL） | 100 | 100 | - | - |
| 标准品（μL） | - | - | 100 | - |
| 蒸馏水（μL） | - | - | - | 100 |
| 显色液（μL） | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |
| 混匀，静置 15min，波长 660nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 。分别计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ （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）。 | | | | |

五、单位定义与计算：

1、标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度（y， $\mu\text{mol/mL}$ ）和吸光度 ΔA 标准（x， ΔA 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定（x， ΔA 测定）代入公式计算样本浓度（y， $\mu\text{mol/mL}$ ）。

2、土壤植酸酶活性计算：

单位定义：每克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）= $y \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.8 \times y \div W$

T：反应时间，24h=1d； $V_{\text{反应}}$ ：反应液总体积，0.8mL；W：样本质量，g。

六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现蓝色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的植酸酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、甲苯易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日