

Soil Ferrous Oxidase Activity Assay Kit

土壤亚铁氧化酶活性测定试剂盒说明书

货号: G0358F | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

土壤亚铁氧化酶(EC 1.16.3.1)能够催化 Fe^{2+} 氧化生成 Fe^{3+} , 在土壤中铁代谢土壤的肥力中起着重要作用。

土壤亚铁氧化酶可催化 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} , Fe^{2+} 与显色剂反应生成紫红色复合物, 该有色物在 560nm 处有特征吸收峰, 通过吸光值变化进而计算出该酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂×2 支	4°C保存	临用前甩几下, 使粉体落入底部, 每支再加 2mL 蒸馏水充分摇匀。
试剂三	液体 8mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下, 使粉体落入底部, 再加入 10mL 蒸馏水充分摇匀。
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、可调式移液器、水浴锅、和蒸馏水。

四、土壤亚铁氧化酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样, 或风干土或者 37 度烘箱风干土, 先粗研磨, 过 40 目筛网, 备用。

2、上机检测:

- ① 打开分光光度计, 调节波长至 560nm, 蒸馏水调零。
- ② 试剂可解冻至室温, 或于 25°C 水浴 5-10min。在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	无基质管	无土管 (仅做一次)
土样 (g)	0.1	0.1	
试剂一	800	800	800
试剂二	100		100
蒸馏水		100	
充分混匀, 37°C 孵育反应 2min			
试剂三	100	100	100
8000rpm, 4°C 或室温离心 10min, 上清液静置 5min 待测。			

- ③ 显色反应: 在 EP 中依次加入:

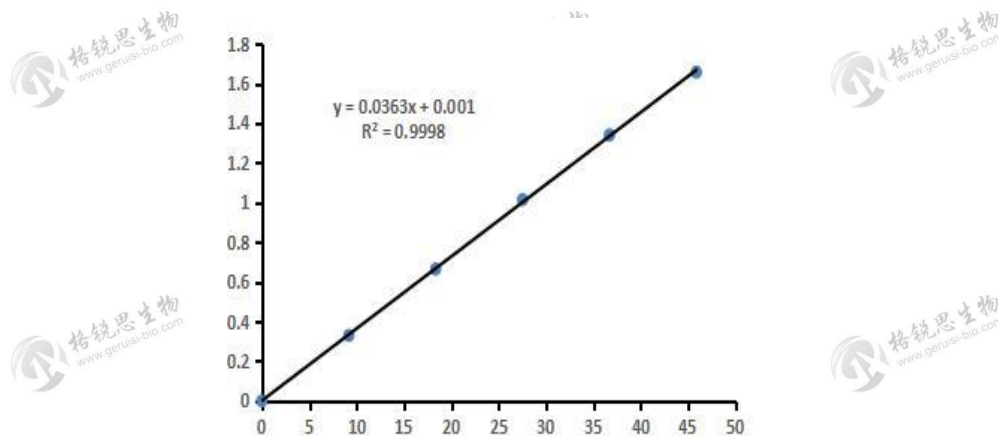
上清液	30	30	30
-----	----	----	----

蒸馏水	570	570	570
试剂四	140	140	140
室温静置 5min，转移全部澄清液体（若有沉淀需 8000rpm 室温离心 5min，再取上清液）至 1mL 比色皿（光径 1cm），在 560nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{无土管}} - (A_{\text{测定管}} - A_{\text{无基质管}})$ 。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.0363x + 0.001$ ；x 为标准品浓度(nmoL)，y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克土壤每分钟氧化 1nmoL 的 Fe^{2+} 定义为一个酶活单位（U）。

$$\begin{aligned} \text{土壤亚铁氧化酶(nmoL/min/g)} &= [(\Delta A - 0.001) \div 0.0363] \times (V \div V1) \div W \div T \times D \\ &= 459.1 \times (\Delta A - 0.001) \div W \times D \end{aligned}$$

V---②步中反应总体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.03mL；

T---反应时间，2min；

W---样本质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；