

植酸酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHC7-C24	植酸酶活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHC7-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，天然植酸酶广泛存在于植物、动物组织和微生物中，现多用微生物来合成植酸酶进行生产应用，植酸酶在粮食生产、畜牧养殖领域具有广泛的研究价值。

二、测定原理：

在一定的环境条件下，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
提取液	液体30 mL×1 瓶	液体60 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2~8℃保存
试剂二	液体 30mL×1 瓶	液体60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一制备液的配制： 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
试剂四	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2~8℃保存
工作液的配制： 临用前在每支试剂三粉剂中加入6mL硫酸溶液（1.4mL浓硫酸+5mL蒸馏水混合而成）混匀溶解后，加入试剂四粉剂混匀溶解，随后用蒸馏水稀释6倍使用。			
标准品	液体 1.5mL×1支	液体1.5mL×1 支	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，

研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 700nm，蒸馏水调零；
- 2、将 5μmol/mL 标准液用蒸馏水稀释至 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.0156μmol/mL 备用；
- 3、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	200	200	-	-
37℃水浴保温5min			-	-
试剂一制备液（μL）	480	-	-	-
混匀，37℃保温30min，沸水浴10min			-	-
试剂一制备液（μL）	-	480	-	-
不同浓度标准液（μL）	-	-	200	-
蒸馏水（μL）	-	-	480	680
工作液（μL）	600	600	600	600
混匀，常温反应10min，10000g，离心10min，于700nm处测定吸光度值，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 。分别计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ （每个测定管需设置一个对照管）。				

五、植酸酶活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$, x 为吸光度值, y 为标准品浓度(μmol/mL)。

根据标准曲线，将 ΔA 带入公式计算出样本浓度（ y , μmol/mL）；

2、样本植酸酶活性计算

(1)按样本蛋白浓度计算

单位定义：在 37℃，pH5.5 环境下，每 mg 组织蛋白每分钟在反应体系释放 1μmol 无机磷为 1 个酶活力单位。

计算公式：植酸酶（U/mg prot）= $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T$

$$=y \div \text{Cpr} \div 30$$

(2)按样本鲜重计算

单位定义：在 37℃，pH5.5 环境下，每 g 组织每分钟在反应体系释

放 1μmol 无机磷为 1 个酶活力单位。

计算公式：植酸酶 (U/g) $= y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$

$$= y \div W \div 30$$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.2mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；T：

反应时间，30min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；N：细胞数量，

以万计。

六、注意事项：

1、为防止沸水浴 10min 过程中水分散失，建议使用螺旋口 EP 管或用封口膜给 EP 管缠口。

2、如果测定吸光值过低或接近空白，适当延长第二步的 37℃水浴反应时间或加大样本量后，重新测定。如果 A 测定大于 1.5 或者 ΔA 超过检测范围，建议将样本用蒸馏水适当稀释后进行测定。注意同步修改计算公式。

3、结果于 40min 内测定完毕。

【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