

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-M48 | 植酸酶活性检测试剂盒 | 48T | 微量法 |
| PMHC7-M96 | | 96T | |

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(48T) | 试剂装量(96T) | 保存条件 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|--------|
| 提取液 | 液体60 mL×1 瓶 | 液体110 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 15mL×1 瓶 | 液体30mL×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3mL硫酸溶液（0.7mL浓硫酸+2.5mL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、酶标仪预热 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） | 50 | 50 | - | - |
| 37℃水浴保温5min | | | - | - |
| 试剂一制备液（μL） | 120 | - | - | - |
| 混匀，37℃保温30min，沸水浴10min | | | - | - |
| 试剂一制备液（μL） | - | 120 | - | - |
| 不同浓度标准液（μL） | - | - | 50 | - |
| 蒸馏水（μL） | - | - | 120 | 170 |
| 工作液（μL） | 150 | 150 | 150 | 150 |
| 混匀，常温反应10min，10000g，离心10min，取200μL于96孔板在700nm处测定吸光度值，分别记为A _{测定} 、A _{对照} 、A _{标准} 、A _{空白} 。分别计算ΔA=A _{测定} -A _{对照} ，ΔA _{标准} =A _{标准} -A _{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，0.05mL； $V_{\text{样总}}$ ：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