

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 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ (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) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T$

$$= y \div C_{\text{pr}} \div 30$$

(2)按样本鲜重计算

单位定义: 在 37°C, pH5.5 环境下, 每 g 组织每分钟在反应体系释

放 1 μ mol 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°C 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