

植酸酶 (phytase) 试剂盒说明书

(货号: BN727131 微板法 48 样)

一、产品简介:

植酸酶 (phytase, EC.3.1.3.8) 是催化植酸及其盐类水解为肌醇与磷酸 (盐) 的一类酶的总称, 属磷酸单酯水解酶, 能将食品和饲料中植酸及其盐转化为可供有机体利用的有效磷, 降低粪便中的磷含量, 减轻对环境的污染, 改善营养成分的吸收和利用, 因此具有极其广泛的研究和应用价值。

植酸酶在一定温度和 pH 值条件下, 水解底物植酸钠生成无机磷与肌醇衍生物, 无机磷在酸性环境中与特异显色剂反应生成蓝色复合物, 通过在 700nm 处检测该有色物质颜色的生成速率即可计算植酸酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4℃ 保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 7mL 试剂一, 充分溶解备用,
试剂三	液体 8mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂四	粉剂 mg×1 瓶	4℃ 保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 8mL 蒸馏水, 充分溶解备用。
试剂五	粉剂 mg×1 支	4℃ 保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 2mL 蒸馏水, 充分溶解备用。
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃ 保存	做标曲用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、低温离心机、恒温水浴锅, 可调式移液器。

四、植酸酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本的制备:

① 组织样本:

取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 4℃, 12000rpm 离心 10min, 取上清液待测。

② 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 调节波长至 700nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	30	30
试剂一		120
试剂二	120	
37℃ 水浴锅或恒温培养箱孵育 30min		
试剂三	75	75

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

反应 mix	75	75
混匀，37℃静置 15min，若浑浊，需 12000rpm 室温离心 10min，取上清 200μL 至 96 孔板中，于 700nm 处检测， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个测定管需设一个对照管）。		

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 8.535x - 0.003$ ；x 为标准品质量（ μmol ），y 为吸光值 ΔA 。

2、按照蛋白浓度计算：

酶活定义：在 37℃，pH5.5 的条件下，每毫克蛋白每分钟释放 1 μmol 的无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{植酸酶活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A + 0.003) \div 8.535 \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \\ &= 0.13 \times (\Delta A + 0.003) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

3、按照样本质量计算：

酶活定义：在 37℃，pH5.5 的条件下，每克样本每分钟释放 1 μmol 的无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{植酸酶活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.003) \div 8.535 \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 0.13 \times (\Delta A + 0.003) \div W\end{aligned}$$

4、按液体体积计算：

酶活定义：在 37℃，pH5.5 的条件下，每毫升液体每分钟释放 1 μmol 的无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\text{植酸酶活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = (\Delta A + 0.003) \div 8.535 \div V1 \div T = 0.13 \times (\Delta A + 0.003)$$