

## 植酸酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1489

产品规格：50管/24样

### 产品说明：

植酸酶(phytase)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，它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钼酸铵显色剂反应生成蓝色复合物，在700nm处有特征吸收峰，根据700nm处吸光值变化可计算得植酸酶活性。

### 产品内容：

提取液：液体50mL×1瓶，4℃保存。

缓冲液：液体25mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×2支，4℃保存，临用前加缓冲液10ml配制，现用现配。

试剂二：液体25mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体24mL×1瓶，4℃保存。

显色剂：粉剂×6瓶：4℃保存。临用前根据用量每瓶加1mL双蒸水溶解，再加4ml试剂三混匀。

### 需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、恒温水浴锅，超声溶解器，回旋式振荡器。

### 操作步骤：

1. 酶制剂：按照质量(g)：提取液体积(mL)为1：500~1000的比例(建议称取约0.001g，加入1mL提取液)加入提取液，在超声波溶解器上溶解15min，再用回旋式振荡器振荡15min，待测。
2. 组织：按照质量(g)：提取液体积(mL)为1：5~10的比例(建议称取约0.1g，加入1mL提取液)加入提取液，在超声波溶解器上溶解15min，再用回旋式振荡器振荡15min，4℃，4000g离心10min，取上清待测。
3. 饲料样品：饲料烘干粉碎，过40目筛，按照质量(g)：提取液体积(mL)为1：5~10的比例(建议称取约0.1g，加入1mL提取液)加入提取液，在超声波溶解器上溶解15min，再用回旋式振荡器振荡15min，4℃，4000g离心10min，取上清待测。
4. 培养液等液体样品，混匀直接测定。

|            | 对照管 | 测定管 |
|------------|-----|-----|
| 样本 (μL)    | 100 | 100 |
| 37℃温育5min  |     |     |
| 试剂一 (μL)   |     | 400 |
| 试剂二 (μL)   | 500 |     |
| 37℃温育30min |     |     |
| 试剂一 (μL)   | 400 |     |
| 试剂二 (μL)   |     | 500 |
| 显色剂 (μL)   | 500 | 500 |



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

室温静置10min, 4000g, 4°C, 离心10min, 取上清1mL, 缓冲液调零测定700nm处吸光值,  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

### 酶活性计算公式

标准曲线:  $y = 0.1084x + 0.0236$ ,  $R^2 = 0.9998$

#### 1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 在37°C, pH5.5的条件下, 每毫克蛋白每分钟从5mmol/L的植酸钠溶液中释放出1 $\mu$ mol的无机磷为一个酶活力单位。

植酸酶活性( $\mu$ mol/min/mg prot) =  $(\Delta A - 0.0236) \div 0.1084 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times N = 4.613 \times (\Delta A - 0.0236) \div C_{\text{pr}} \times N$

#### 2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 在37°C, pH5.5的条件下, 每克样本每分钟从5mmol/L的植酸钠溶液中释放出1 $\mu$ mol的无机磷为一个酶活力单位。

植酸酶活性( $\mu$ mol/min/g) =  $(\Delta A - 0.0236) \div 0.1084 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T \times N = 4.613 \times (\Delta A - 0.0236) \div W \times N$

#### 3. 培养液等液体样品

酶活性定义: 在37°C, pH5.5的条件下, 每毫升液体每分钟从5mmol/L的植酸钠溶液中释放出1 $\mu$ mol的无机磷为一个酶活力单位。

植酸酶活性( $\mu$ mol/min/mL) =  $(\Delta A - 0.0236) \div 0.1084 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \times N = 4.613 \times (\Delta A - 0.0236) \times N$

V反总: 反应总体积, 1.5mL;

V样: 反应体系中加入样本体积, 0.1mL;

V样总: 加入提取液体积, 1mL;

Cpr: 样本蛋白含量, mg/mL;

W: 样本质量, g;

N: 样品稀释倍数。

### 注意事项:

1. 试剂三4°C保存一个月, 显色剂需要临用前根据用量配制, 每一瓶是10个样本的用量, 新配制的显色剂若有颜色则已经污染或者试剂过期, 应放弃使用。
2. 测定前先做预实验, 将待测样本的浓度调整到合适的范围, 并在计算公式中乘以稀释倍数。
3. 对照管与测定管加入试剂一和试剂二的顺序是相反的, 务必保证加入试剂时间的一致性, 以保证反应的准确性。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>