

# 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。

X 4 1X11 11 HH / 110. 4 1 1 X 1X1/C =		
	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
室温静置10min, 4000g, 4℃, 离心10min, 取上清1mL, 缓冲液调零测定700nm		





处吸光值,  $\Delta A=A$ 测定管-A对照管。

#### 酶活性计算公式

标准曲线: y=0.1084x+0.0236, R<sup>2</sup>=0.9998

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义:在37℃,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1μmol的无机磷为一个酶活力单位。

植酸酶活性(μmol/min/mg prot)=(ΔA-0.0236)÷0.1084×V反总÷(V样×Cpr)÷T×N=4.613×(ΔA-0.0236)÷Cpr×N

2. 按照样本质量计算

酶活性定义:在37℃,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1μmol的无机磷为一个酶活力单位。

植酸酶活性(μmol/min/g)=(ΔA-0.0236)÷0.1084×V反总÷(V样×W÷V样总)÷T×N=4.613×(ΔA-0.0236)÷W×N

3. 培养液等液体样品

酶活性定义:在37℃,pH5.5的条件下,每毫升液体每分钟从5mmo1/L的植酸钠溶液中释放出1μmol的无机 磷为一个酶活力单位。

植酸酶活性(μmol/min/mL)=(ΔA-0.0236)÷0.1084×V反总÷V样÷T×N=4.613×(ΔA-0.0236)×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℃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。