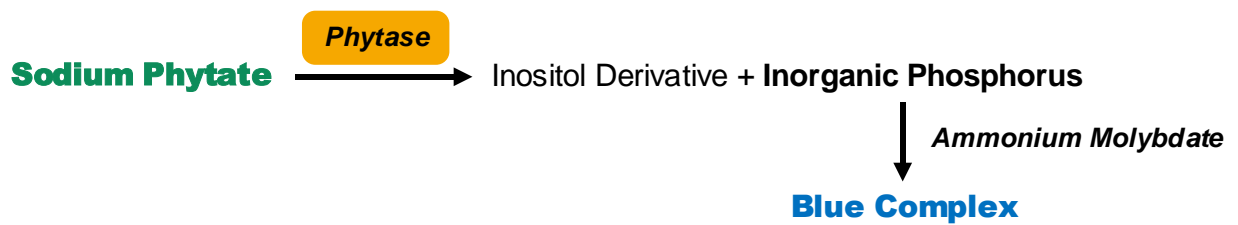




植酸酶活性检测试剂盒
Phytase Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



植酸酶活性检测试剂盒

Phytase Activity Assay Kit

一、产品描述

植酸酶是催化植酸及植酸盐水解成肌醇和无机磷酸的一类酶的总称，属磷酸单酯水解酶，植酸酶作为一种新型酶制剂，能消除植酸引起的抗营养作用，提高蛋白质的生物利用率，在食品和饲料领域具有重要的研究和应用价值。

植酸酶能够将植酸钠水解为无机磷与肌醇衍生物，无机磷与钼酸铵反应生成蓝色复合物，产物在 700 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征植酸酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液		液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一		液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二		粉剂×1 瓶	4°C避光保存	使用前加入 12 mL 试剂一充分溶解 (现用现配，配制后 4°C可保存 1 个月)
试剂三	组分 A	粉剂×5 瓶	4°C保存	使用前每瓶组分 A 中加入 2 mL 蒸馏水 再加入 8 mL 组分 B 充分溶解 (现用现配，变色则停止使用)
	组分 B	液体 40 mL×1 瓶	4°C避光保存	
标准液		液体 1 mL×1 支	4°C保存	10 μmol/mL 磷标准液
标准稀释液的制备：使用前将 10 μmol/mL 磷标准液使用蒸馏水稀释至 4.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 μmol/mL 即为标准稀释液。				

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μmol/mL)	10	4.0	2.0	1.0	0.5	0.25
标准液体积 (μL)	400	500	500	500	500	500
蒸馏水体积 (μL)	600	500	500	500	500	500
稀释后浓度 (μmol/mL)	4.0	2.0	1.0	0.5	0.25	0.125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，充分振荡混匀 15 min，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

②培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 700 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	100	100	-	-
标准稀释液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
37℃孵育 5 min				
试剂一	-	400	400	400
试剂二	400	-	-	-
①充分混匀，37℃准确反应 30 min； ②立即 95℃处理 10 min，冷却至室温；				
试剂三	500	500	500	500
①充分混匀，37℃显色 15 min； ②10000 g 常温离心 5 min，取上清；				

注：95℃处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：将上清液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 700 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需要测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 4.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.植酸酶 (Phytase) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 μmol 无机磷所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Phytase (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}} \times T} = \frac{0.033 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 μmol 无机磷所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Phytase (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W \times T} = \frac{0.033 \times x}{W}$$

③按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 μmol 无机磷所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Phytase (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times T} = 0.033 \times x$$

注释： V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，30 min。

四、注意事项

- ①试剂三需根据使用量现用现配，配制后应为无色溶液，若变色则已污染应停止使用；
- ②若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

