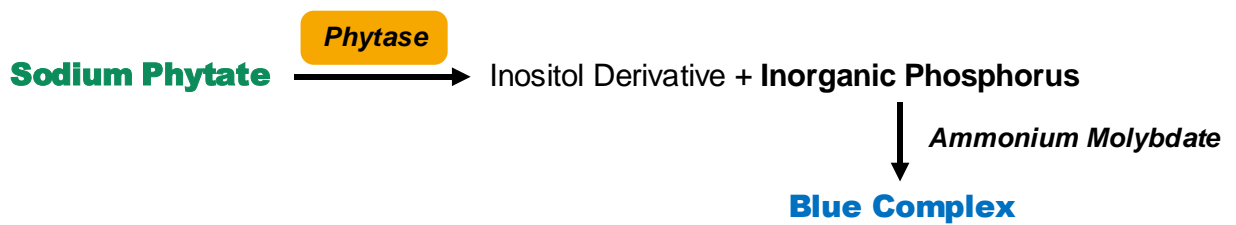




植酸酶活性检测试剂盒  
Phytase Activity Assay Kit



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 120 mL×1 瓶 | 4°C 保存   | -  |
| 试剂一   |      | 液体 20 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 8 mL 试剂一充分溶解<br>(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 1 mL 蒸馏水<br>再加入 4 mL 组分 B 充分溶解<br>(现用现配，变色则停止使用) |
|   | 组分 B | 液体 20 mL×1 瓶  | 4°C 避光保存 |  |
| 标准液   |      | 液体 1 mL×1 支   | 4°C 保存   | <b>10 μmol/mL 磷标准液</b>   |
| <b>标准稀释液的制备：</b> 使用前将 10 μmol/mL 磷标准液使用蒸馏水稀释至 8.0、4.0、2.0、1.0、0.5、0.25 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  | 8.0 | 4.0 | 2.0 | 1.0 | 0.5  |
| 标准液体积 (μL)      | 400 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200  |
| 蒸馏水体积 (μL)      | 100 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200  |
| 稀释后浓度 (μmol/mL) | 8.0 | 4.0 | 2.0 | 1.0 | 0.5 | 0.25 |

### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂：**可见分光光度计或酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、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分光光度计或酶标仪预热 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<br>( $\mu\text{L}$ ) | 对照管<br>( $\mu\text{L}$ ) | 标准管<br>( $\mu\text{L}$ ) | 空白管<br>( $\mu\text{L}$ ) |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 粗酶液  | 30                       | 30                       | -                        | -                        |
| 标准稀释液  | -                        | -                        | 30                       | -                        |
| 蒸馏水  | -                        | -                        | -                        | 30                       |
| 37℃孵育 5 min                                      |                          |                          |                          |                          |
| 试剂一  | -                        | 120                      | 120                      | 120                      |
| 试剂二  | 120                      | -                        | -                        | -                        |
| ①充分混匀，37℃准确反应 30 min；<br>②立即 95℃处理 10 min，冷却至室温； |                          |                          |                          |                          |
| 试剂三  | 150                      | 150                      | 150                      | 150                      |
| ①充分混匀，37℃显色 15 min；<br>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：**吸取 200  $\mu\text{L}$  上清液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，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  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照， $\Delta A$  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 8.0、4.0、2.0、1.0、0.5、0.25  $\mu\text{mol/mL}$  为横坐标 (x)，以其对应的  $\Delta A$  标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  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  $\mu\text{mol}$  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  $\mu\text{mol}$  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  $\mu\text{mol}$  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，0.03 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.

