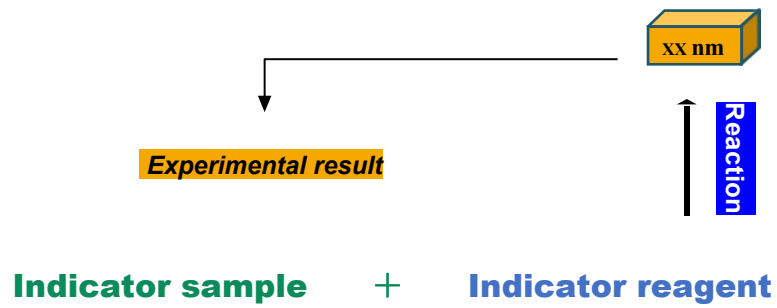


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

植酸酶活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体100mL×1瓶	4℃保存	
缓冲液	液体10mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×2支	4℃保存	临用前加缓冲液4mL配制，现用现配
试剂二	液体10mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	液体10mL×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0.4mL双蒸水溶解，再加1.6mL试剂三混匀。 样本处理

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，它可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。测定原理 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。

自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、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°C, 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°C, 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)	20	20
37°C温育5min		
试剂一 (μL)		80
试剂二 (μL)	100	
37°C温育30min		
试剂一 (μL)	80	
试剂二 (μL)		100
显色剂 (μL)	100	100
室温静置10min, 4000g, 4°C, 离心10min, 取上清200μL, 缓冲液调零测定700nm处吸光		

酶活性计算公式

1. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下 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 μmol的无机磷为一个酶活力单位。

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

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 μmol的无机磷为一个酶活力单位。

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

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 μmol的

无机磷为一个酶活力单位。

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

V反总：反应总体积，0.3mL；V样：反应体系中加入样本体积，0.02mL；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

2. 用96孔板测定的计算公式如下

标准曲线：y = 0.0542x + 0.0236, R2 = 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 μmol的无机磷为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{植酸酶活性} (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A - 0.0236) \div 0.0542 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times N \\ &= 9.226 \times (\Delta A - 0.0236) \div C_{\text{pr}} \times N\end{aligned}$$

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 μmol的无机磷为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{植酸酶活性} (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) &= (\Delta A - 0.0236) \div 0.0542 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T \times N \\ &= 9.226 \times (\Delta A - 0.0236) \div W \times N\end{aligned}$$

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 μmol的无机磷为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{植酸酶活性} (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) &= (\Delta A - 0.0236) \div 0.0542 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \times N \\ &= 9.226 \times (\Delta A - 0.0236) \times N\end{aligned}$$

V反总：反应总体积，0.3mL；V样：反应体系中加入样本体积，0.02mL；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20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。