# 植酸酶（phytase）活性检测试剂盒说明书

规格：24 样　　方法：酶标仪法

## 一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。
4. 显色剂需要临用前根据用量配制，每一瓶是 13 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。
5. ΔA 大于 1 时，需用提取液稀释样本上清，至 ΔA 小于 1，计算时乘以相应的稀释倍数。

## 二、产品组分

| 试剂名称 | 试剂规格 | 保存条件 | 备注 |
|---|---|---|---|
| 提取液 | 30 mL×1 | 4℃ | |
| 缓冲液 | 7 mL×1 | 4℃ | |
| 试剂一 | 粉剂×1 | 4℃ | 临用前加 4 mL 缓冲液溶解，现用现配；用不完的试剂 4℃保存一个月。 |
| 试剂二 | 7 mL×1 | 4℃ | |
| 显色剂 | 粉剂×4 | 4℃ | 临用前根据用量每瓶加 0.4 mL 超纯水/蒸馏水溶解，再加 1.6 mL 试剂二混匀。 |

## 三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

## 四、样品制备

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 0.001 g，加入 1 mL 提取液）加入提取液，在超声波溶解器上溶解 15 min，再用回旋式振荡器振荡 15 min，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 0.1 g，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，在超声波溶解器上溶解 15 min，再用回旋式振荡器振荡 15 min，4℃，4000 g 离心 10 min，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 0.1 g，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，在超声波溶解器上溶解 15 min，再用回旋式振荡器振荡 15 min，4℃，4000 g 离心 10 min，取上清待测。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

**五、测定步骤**

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 700 nm 处。

2.在 1.5 mL 离心管中依次加入：

| | 测定管 | 对照管 |
|---|---|---|
| 样本（μL） | 30 | 30 |
| 37℃温育 5 min。 | | |
| 缓冲液（μL） | - | 120 |
| 试剂一（μL） | 120 | - |
| 充分混匀，37℃温育 30 min，然后 95℃，10 min 终止反应，冷却至室温。 | | |
| 显色剂（μL） | 150 | 150 |
| 充分混匀后，37℃静置 15 min，10000 g，室温，离心 5 min，取上清 200 μL，测定 700 nm 处吸光值，记 A 测定、A 对照，ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管需设一个对照管。 | | |

**六、计算**

标准方程

标准条件下测得回归方程为：y=0.1382x+0.0082，$R^2$=0.9998，x 为标准品浓度（μmol/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照液体体积计算：

单位定义：在 37℃，pH5.5 的条件下，每毫升液体每分钟释放出 1 μmol 的无机磷为一个酶活力单位。

**植酸酶活性（μmol/min/mL）**=（ΔA-0.0082）÷0.1382÷T=0.24×（ΔA-0.0082）

2. 按照样本质量计算：

单位定义：在 37℃，pH5.5 的条件下，每克样本每分钟释放出 1 μmol 的无机磷为一个酶活力单位。

**植酸酶活性（μmol/min/g 鲜重）**=（ΔA-0.0082）÷0.1382÷W÷T=0.24×（ΔA-0.0082）

÷W

3. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

单位定义：在 37℃，pH5.5 的条件下，每毫克蛋白每分钟释放出 1 μmol 的无机磷为一个酶活力单位。

**植酸酶活性（μmol/min/mg prot）**=（ΔA-0.0082）÷0.1382÷Cpr÷T=0.24×（ΔA-0.0082）÷Cpr

Cpr：样本蛋白含量，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，30 min。

## 七、产品简介

植酸酶是特异性降解植酸的磷酸水解酶，广泛存在于植物与微生物体内。该酶可分解植酸释放游离磷酸与矿质离子，提升生物体磷素与微量元素利用效率，消除植酸的抗营养作用，调控植株磷素代谢与营养吸收，是评价植物磷素活化利用能力与营养代谢水平的重要生理指标。