植酸酶（phytase）活性检测试剂盒说明书

规格：96 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	105 mL×1	4℃	
缓冲液	26 mL×1	4℃	
试剂一	粉剂×1	4℃	临用前加 13 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	26 mL×1	4℃	
显色剂	粉剂×16	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。