

## 植酸含量检测试剂盒（微量法）

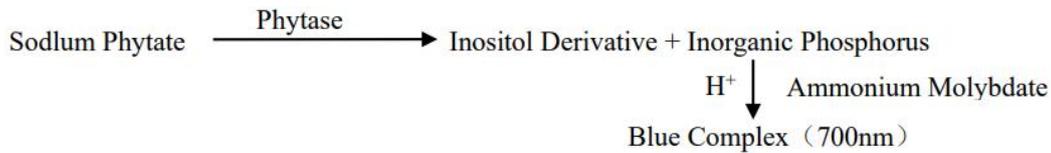
产品货号：BA2276

产品规格：100T/48S

### 产品说明：

植酸（Phytic acid），又名肌醇六磷酸、环己六醇六磷酸，普遍存在于真核细胞，在许多细胞活动中发挥关键作用，如：维持无机磷稳态、参与植物激素信号转导、作为酶的辅助因子参与DNA修复、RNA编辑和mRNA输出。植酸在植物发芽和生长过程中提供主要磷源，广泛存在于谷类、豆类、水果、蔬菜和干果等植物性食物中。

在一定的环境条件下，植酸酶可以分解植酸钠（肌醇六磷酸十二钠）产生无机磷和肌醇衍生物，在酸性条件下，无机磷和钼酸铵显色剂发生反应，产生蓝色的钼蓝物质，其在700nm有特征吸收峰，通过测定无机磷的含量，可计算出植酸含量。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入4mL试剂一，充分溶解；用不完的试剂-20℃分装保存4周，避免反复冻融；
2. 试剂三：临用前加入2.36mL蒸馏水充分溶解，再将枪头伸入液面下缓慢加入0.64mL浓硫酸，充分混合；2-8℃可以保存4周；
3. 试剂四：临用前加入15mL蒸馏水充分溶解，再将枪头伸入液面下缓慢加入15μL浓硫酸，充分混合；2-8℃可以保存4周；
4. 工作液：临用前根据样本量按照试剂三：试剂四=1mL:5 mL(共6mL，40T)的比例混匀，配置后当天用完；
5. 标准品：临用前加入1.08mL试剂一充分溶解，配制成10μmol/mL植酸标准品，2-8℃保存4周；
6. 250nmol/mL标准品的配制：临用前取50μL 10μmol/mL植酸标准品和450μL蒸馏水混合为1μmol/mL标准品（即1000nmol/mL）；再取250μL 1000nmol/mL标准品和750μL蒸馏水混合配制成250nmol/mL植酸标准品，用于下述操作表标准管测定，现配现用。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、浓硫酸（>98%，AR）、冰和蒸馏水。

### 测定步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

1. 新鲜植物样本：按照质量（g）：提取液一体积（mL）为 1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL提取液一）加入提取液一，充分匀浆后，常温震荡2h，然后于4℃，10000g离心10min，取0.8mL上清液，再缓慢加入0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4℃ 10000g离心10min后取上清待测。
2. 干粉类植物样本：按照质量（g）：提取液一体积（mL）为1：5~20的比例（建议称取约0.05g，加入1mL提取液一）加入提取液一，充分匀浆后，常温震荡2h，然后于4℃，10000g离心10min，取0.8mL上清液，再缓慢加入 0.15mL提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4℃ 10000g 离心10min后取上清待测。
3. 液体样本：取100μL液体加入1mL提取液一，常温震荡2h，然后于4℃，10000g离心10min，取0.8mL上清液，再缓慢加入0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4℃ 10000g离心10min后取上清待测。

**注：提取液二需缓慢加入，加入后会产生大量气泡，建议使用2mL EP管进行操作。**

## 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至700nm，可见分光光度计蒸馏水调零。
2. 操作表：（1.5mLEP管中加入下列试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	120	120	-	
标准品	-	-	120	-
试剂一	-	50	-	120
试剂二	50	-	50	50
37℃水浴30min				
工作液	150	150	150	150

常温静置10min，吸取0.2mL反应液，于700nm处测定吸光值，分别记为A测定、A对照、A标准、A空白。分别计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ （标准管和空白管只需做1-2次，每个测定管需设置一个对照管）。

## 三、植酸含量计算

1. 按样本蛋白浓度计算

$$\text{植酸含量 (nmol/mg prot)} = \Delta A_{测定} \times C_{标} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (V_{样} \times C_{pr}) = 250 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$$

2. 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{植酸含量 (nmol/g 质量)} &= \Delta A_{测定} \times C_{标} \div \Delta A_{标准} \times (V_{上清} + V_{提取液二}) \div (W \times V_{上清} \div V_{提取液一}) \\ &= 296.875 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \end{aligned}$$

3. 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{植酸含量 (nmol/mL)} &= \Delta A_{测定} \times C_{标} \div \Delta A_{标准} \times (V_{上清} + V_{提取液二}) \div [V_{液体} \times V_{上清} \div (V_{提取液一} + V_{液体})] \\ &= 3265.625 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \end{aligned}$$

C标：标准管浓度，250nmol/mL；V样：加入样本体积，0.12mL；V上清：提取时上清液体积，0.8mL；V提取液二：加入提取液二的体积，0.15mL；V提取液一：加入的提取液一体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；V液体：液体样本体积，0.1mL；W：样本质量，g。

### 注意事项：

1. 如果 $\Delta A_{测定}$ 小于0.010或测定管吸光值接近空白管，可以增加样本量后再进行测定；如果 $\Delta A_{测定}$ 大于1，建议将样本上清用蒸馏水适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。
2. 如果样本加入工作液后出现浑浊，建议将样本上清用蒸馏水适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。
3. 提取液一中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量，需另取样本。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com