

植酸含量检测试剂盒（可见分光光度法）

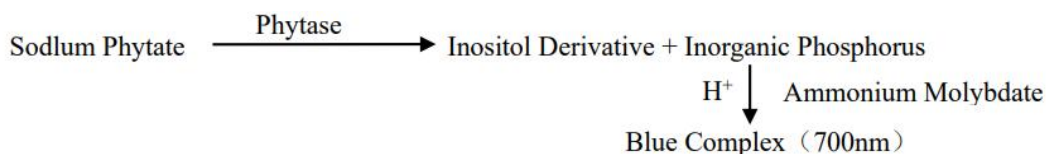
产品货号：BA2275

产品规格：50T/24S

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20mL×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8mL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5.9mL蒸馏水充分溶解，再将枪头伸入液面下缓慢加入1.6mL浓硫酸，充分混合；2-8℃可以保存4周；
3. 试剂四：临用前加入37.5mL蒸馏水充分溶解，再将枪头伸入液面下缓慢加入37.5μL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，8T)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10μmol/mL植酸标准品，2-8℃保存4周；
6. 125nmol/mL标准品的配制：临用前取50 μ L 10 μ mol/mL植酸标准品和450 μ L蒸馏水混合为1 μ mol/mL标准品（即1000nmol/mL）；再取125 μ L 1000nmol/mL标准品和875 μ L蒸馏水混合配制125nmol/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、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、1mL玻璃比色皿、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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 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0.2g，加入2mL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1.6mL上清液，再缓慢加入0.3mL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。
- 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0.1g，加入2mL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1.6mL上清液，再缓慢加入0.3mL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。
- 液体样本：取200μL液体加入2mL提取液一，常温震荡2h，然后于4℃，10000g离心10min，取1.6mL上清液，再缓慢加入0.3mL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5mL EP管进行操作。

二、测定步骤

- 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至700nm，蒸馏水调零。
- 操作表：（2mLEP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	600	600	-	
标准品	-	-	600	-
试剂一	-	250	-	600
试剂二	250	-	250	250
37℃水浴30min				
工作液	750	750	750	750
常温静置10min，于700nm处测定吸光值，记为A测定、A对照、A标准、A空白。分别计算ΔA测定=A测定-A对照，ΔA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

- 按样本蛋白浓度计算

$$\text{植酸含量 (nmol/mg prot)} = \Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = 125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

- 按样本质量计算

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

- 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{植酸含量 (nmol/mL)} &= \Delta A_{\text{测定}} \times C_{\text{标}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div [V_{\text{液体}} \times V_{\text{上清}} \div (V_{\text{提取液一}} + V_{\text{液体}})] \\ &= 1632.81 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \end{aligned}$$

C标：标准管浓度，125nmol/mL；V样：加入样本体积，0.6mL；V上清：提取时上清液体积，1.6mL；V提取液二：加入提取液二的体积，0.3mL；V提取液一：加入的提取液一体积，2mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；V液体：液体样本体积，0.2mL；W：样本质量，g。

注意事项：

- 如果ΔA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ΔA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。
- 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。
- 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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com