

## 植酸含量测定试剂盒说明书

(货号: ADS-F-QT017 分光法 48 样)

### 一、产品简介:

植酸 (Phytic acid, 又称为肌醇六磷酸) 在多种植物组织 (特别是米糠与种子) 中作为磷的主要储存形式, 其结构是肌醇的 6 个羟基均被磷酸酯化生成的肌醇衍生物, 对种子的正常生长起着重要作用。植酸具有较强的螯合作用, 近几年的研究发现植酸作为抗氧化剂在保鲜、抗氧化等方面有一定作用。

植酸可使氯化铁-磺基水杨酸紫红色显色剂褪色, 且植酸含量与褪色程度成正比, 通过检测 500 nm 处吸光值的下降量进而得出样品中植酸含量。

### 二、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉体×2 支	4°C保存	
试剂二	粉体×2 瓶	4°C保存	
标准品	粉体×1 支	4°C保存	若要做标曲则用到该试剂

### 三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

### 四、植酸含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 1、样本制备:

##### ① 组织样本:

称取烘干粉碎过 50 目筛的干样 0.1g 或鲜样 0.1g, 加入 1mL 提取液, 300rpm 室温震荡提取 30min 后 3800rpm, 4°C或室温离心 10min, 取上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

##### ② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 ( $10^4$ ): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

##### ③ 液体样本: 澄清的液体样本直接测定, 若浑浊则离心后取上清检测。

#### 2、上机检测:

##### ① 分光光度计预热 30min, 调节波长到 500 nm。

② 显色剂 (紫红色) 配制: 显色剂 (紫红色) 配制: 临用前向一支试剂一中加入 1mL 蒸馏水混匀后全部转移至试剂二中, 再向试剂一中加入 1mL 蒸馏水涮洗管壁后全部转移至试剂二中, 接着向试剂二中加入 9mL 蒸馏水混匀, 即得总体积为 11mL 显色剂 (紫红色)。用不完的试剂 4°C 保存并在三天内用完。

③ 上清液稀释: 可先取 2 个样本预测, 确定适合本批样本的稀释浓度 D: 植酸含量高的样本, 可用提取液做梯度稀释确定最佳稀释倍数, 如稀释 2 倍、5 倍、10 倍。

##### ④ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	空白管 (仅做一次)
-----------------	-----	------------

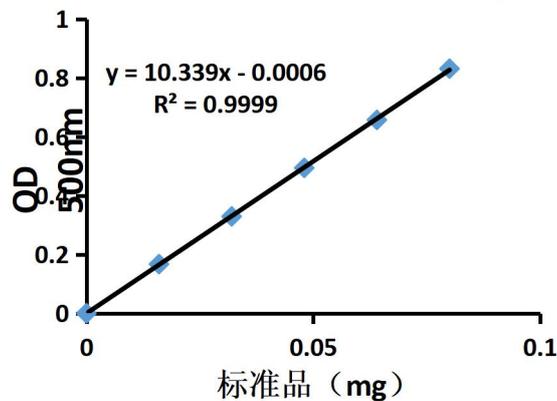
样本	200	
蒸馏水		200
显色剂	400	400
蒸馏水	200	200

混匀孵育 2min 后，反应混合液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 500nm 处读取 A 值， $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。

- 【注】1. 若 A 测定管的值小于 0.2 则需要将样本用提取液稀释后从新检测，如稀释 5 倍，稀释倍数 D 带入计算公式重新计算。  
2. 若  $\Delta A$  的值小于 0.05，则需要增加样本上样量 V1，如增至 300 $\mu$ L，同时蒸馏水相对减少以保持原体系不变，则改变后的 V1 重新带入计算公式计算。

## 五、结果计算：

- 1、标准曲线方程： $y = 10.339x - 0.0006$ ，x 是标准品质量（mg），y 是  $\Delta A$ 。



- 2、按样本鲜重计算：  
植酸(mg/g)=[ $(\Delta A + 0.0006) \div 10.339$ ] $\div (W \times V1 \div V) \times D = 0.484 \times (\Delta A + 0.0006) \div W \times D$
- 3、按细胞数量计算：  
植酸( $\mu$ g/g)=[ $(\Delta A + 0.0006) \div 10.339$ ] $\div (500 \times V1 \div V) \times 10^3 \times D = 484 \times (\Delta A + 0.0006) \div 500 \times D$
- 4、按液体体积计算：  
植酸(mg/mL)=[ $(\Delta A + 0.0006) \div 2.0679$ ] $\div V1 \times D = 0.484 \times (\Delta A + 0.0006) \times D$

V---加入提取液体积，1mL； V1---加入样本体积，0.2mL；  
W---样本质量，g； 500---细胞数量，万；  
D---稀释倍数，若未稀释则值为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（10mg/mL）：标准品用 1mL 蒸馏水混匀溶解（母液需在两天内用）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.08, 0.16, 0.24, 0.32, 0.4. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。