

植酸含量 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号：BP10203W

注意：请在试剂盒保质期内使用，具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用，不能用于临床诊断。

检测范围：0.001-1mg/mL

灵敏度：0.001mg/mL

有效期：6个月

保存温度：2-8℃

检测原理:

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 500nm 处吸光值的下降量进而得出样品中植酸含量。

注意事项:

1. 不能使用过期产品, 不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用, 以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病, 所有的样品都应管理好, 按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂, 使用前请甩几下, 使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/40S）	规格（96T/88S）	保存条件
试剂一	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.001-1mg/mL, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**: 按照组织质量(g): 试剂一体积(mL)为 1:5~10 的比例 (建议称取烘干粉碎 50 目筛的干样 0.05g 或新样 0.1g, 加入 1mL 试剂一) 室温震荡提取 2h 后, 离心机 4℃, 10000 g, 10min, 取上清待测。
4. **血清 (浆) 等液体样本**: 直接测定 (若有浑浊则离心后取上清测定)。
5. **细胞/细菌样本**: 收集细菌和细胞到离心管, 离心去上清, 按照细菌或细胞数量(10^4 个): 试剂一体积(mL)为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一), 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); 10000 g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液的配制:** 取一瓶标准品加 2mL 蒸馏水混匀，为 5mg/mL 标准品母液，母液可保存 2 天。按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液: 0mg/mL、0.1mg/mL、0.2mg/mL、0.3mg/mL、0.4mg/mL、0.5mg/mL、0.6mg/mL、0.7mg/mL。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
5mg/mL 标准品(μL)	0	10	20	30	40	50	60	70
蒸馏水(μL)	500	490	480	470	460	450	440	430

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 500nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入):

试剂名称(μ L)	标准孔	测定孔
样本上清	50	
标准品		50
试剂二	100	100
蒸馏水	50	50

混匀, 孵育 2min, 在 500nm 波长处测各孔 OD 值。

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$ 。

2. 按样本鲜重计算：

$$\text{植酸}(\text{mg/g})=[(\Delta A-b)\div a]\div(W\div V)\times N=(\Delta A-b)\div a\div W\times N$$

3. 按细胞数量计算：

$$\text{植酸}(\mu\text{g/g})=[(\Delta A-b)\div a]\div(500\div V)\times 10^3\times N=(\Delta A-b)\div a\div 500\times 10^3\times N$$

4. 按液体体积计算：

$$\text{植酸}(\text{mg/mL})=[(\Delta A-b)\div a]\times N=(\Delta A-b)\div a\times N$$

注：

y: 空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)-标准孔 OD 值 ΔA : 空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)-测定孔 OD 值

a: 标准曲线斜率 N: 样本加入检测体系前的稀释倍数

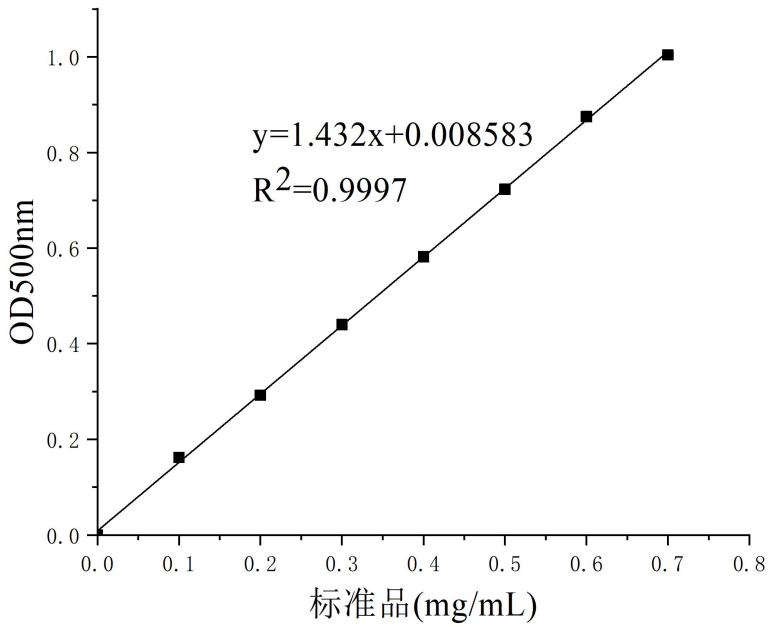
x: 吸光度对应的浓度 500: 细胞数量, 万;

b: 标准曲线截距 V: 加入试剂一的体积, mL

W: 样本质量, g

参考曲线:

$y=1.432x+0.008583$, $R^2=0.9997$, x 是标准品浓度(mg/mL), y 是 ΔA 。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。