

无机磷检测试剂盒(紫外微板法)

产品简介

血清中的无机磷(Inorganic phosphorous)主要由 H_2PQ^- 和 HPQ^{2-} 两种磷酸根阴离子组成,上述阴离子在在不同的 pH 环境下能快速相互转换,在 pH7.4 血清中两种磷酸根阴离子浓度比例为 1:4;在酸中毒环境下二者浓度约为 1:1;在碱中毒环境下二者浓度比例为 1:9;在 pH4.5 尿液中浓度比例为 100:1。WHO 推荐的常规检测方法为比色法,我国卫生部临检中心推荐的常规方法为硫酸亚铁钼蓝比色法和米吐尔钼蓝比色法,亦可采用紫外分光光度法。

无机磷检测试剂盒(紫外微板法)无需处理样本,利用无机磷与钼酸铵结合生成磷钼酸铵,通过酶标仪直接检测 325 ~ 340nm 处吸光度,根据公式计算出无机磷含量。紫外法优点在于:操作简单、快速、稳定;缺点在于:易受溶血、黄疸、脂血的干扰。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称 \ 编号	ADS096TC0 100T	Storage
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)	1ml	4°C
试剂(B): 磷标准稀释液	2ml	RT
试剂(C): 钼酸铵粉末	1 支	RT
试剂(D): 钼酸铵稀释液(2×)	10ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料

- 1、去离子水
- 2、精密天平、离心管或试管、离心机、全波长酶标仪、96 孔 UV 酶标板

操作步骤(仅供参考)

1、(选做)制备样品:

①血浆、血清样品: 血浆、血清按照常规方法制备,可以直接用于本试剂盒的测定, -20°C 冻存,用于 Pi 的检测。

②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行匀浆,低速离心取上清, -20°C冻存,用于Pi 的检测。

- ③高浓度样品：如果样品中含有较高浓度的 Pi，可以使用 ddH₂O 稀释，不宜使用普通蒸馏水稀释。
- ④(选做)样品准备完毕后可以用 BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 Pi 含量。
- 2、制备磷标准工作液：取适量的磷标准(1mg/ml)，按磷标准(1mg/ml)：磷标准稀释液=1：39 的比例稀释，即获得磷标准工作液(25 μg/ml=0.807 mmol/L)，4℃保存，用于 Pi 的检测。
 - 3、制备钼酸铵显色液：称取适量的钼酸铵粉末，按照钼酸铵粉末：钼酸铵稀释液(2×)：去离子水=12mg：10ml：10ml 的比例混合溶解，即可使用。亦可称取 120mg 钼酸铵粉末加入 100ml 去离子水，充分溶解后分装成 10ml 或适当规格的小份，使用时与钼酸铵稀释液(2×) 等比例混合即可使用，-20℃保存，可适当延长保质期。钼酸铵显色液配制后可 4℃保存 2 周，如溶液变浑浊或颜色加深则应弃用。请注意，本产品提供多于实际用量的钼酸铵粉末。
 - 4、Pi 加样：按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，小心混匀。如果样品中的无机磷浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行孔，求平均值。

加入物(μl)	空白管	标准管	测定管
ddH ₂ O	5	—	—
磷标准工作液((25 μg/ml)	—	5	—
待测样品	—	—	5
钼酸铵显色液	200	200	200

- 5、Pi 测定：混匀，室温静置 5min，以空白调零，酶标仪 340nm 处测定，读取标准孔、测定孔的吸光度(即为 A_{标准}，A_{测定})。

计算

血清、血浆中无机磷计算公式：磷=(A_{测定}/A_{标准})×0.807×N(mmol/L)
=(A_{测定}/A_{标准})×25×N(mg/L)

尿液中无机磷计算公式：磷=(A_{测定}/A_{标准})×0.807×N(mmol/L)
=(A_{测定}/A_{标准})×25×N(mg/L)

组织中磷计算公式：磷(mmol/mg)=(A_{测定}/A_{标准})×0.807×N /c

式中：A_{测定}=测定管的吸光度

A_{标准}=标准管的吸光度

N=样品稀释倍数

c=待测样品蛋白浓度(mg/L)

单位换算：1 mg/dL=10 mg/L=1 mmol/L×0.323

参考区间：健康成年人血清磷浓度：0.9 ~ 1.34mmol/L(2.76 ~ 4.16mg/dl)

注意事项

- 1、 本法应在 5min ~ 2h 内检测，3h 后标准管吸光度无变化，测定管吸光度随着时间的延长而上升。
- 2、 溶血样本对检测有干扰，尽量避免采用溶血样本。
- 3、 黄疸和脂血样本应做标本空白。
- 4、 本法能够用于自动生化分析仪终点检测法。
- 5、 钼酸铵显色液配制后可 4℃保存 2 周，如溶液变浑浊或颜色加深则应弃用。
- 6、 如果样品浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数
- 7、 340nm 测得的吸光度是 325nm 的 82%。
- 8、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12个月。常温运输，按要求保存。

附录：标准曲线制作：在室温条件下按说明书操作，用紫外分光光度计对系列磷标准(5、10、15、20、25、30、35、40 μg/ml)进行 340nm 处吸光度的测定，其标准曲线如下(仅供参考)：

无机磷检测试剂盒(紫外比色法)

