北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www. bjoka- vip. com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

组织无机磷含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：D17138

规格： 50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 60mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 10mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三 A	粉剂 ×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三 B	粉剂 ×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品	液体 1mL×1 支	2-8℃ 保存

溶液的配制：

1、 试剂三 A: 临用前加入 10mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8℃ 保存 4 周；

2、 试剂三 B: 临用前加入 10mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8℃ 保存 4 周；

3、 试剂三：临用前按试剂三 A: 试剂三 B: 试剂二 =1:1:1 的体积比例配制，配好的试剂三应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，试剂三根据样本量现用现配，限当天使用。

4 、标准品： 10 mmol/L 磷标准液。

产品说明：

无机磷主要指磷酸根，参与生物体内多种代谢，包括能量代谢、核酸代谢、蛋白质磷酸化和脱磷酸化等等，此外促进碳水化合物的合成、转化和转运。

钼蓝与磷酸根生成 660nm 有特征吸收峰的物质，通过测定 660 nm 光吸收，即可计算无机磷含量。

Inorganic Phosphate+Ammonium Molybdate ——→Phosphomolybdate Blue(660nm)

技术指标：

最低检出限： 0.0576 mmol/L

线性范围： 0.0625-2 mmol/L

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、 1 mL玻璃比色皿、研钵 / 匀浆器和蒸馏水。

操作步骤：

一 、无机磷提取（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称取约 0.1g 组织，加入 1.0mL 试剂一，冰上充分匀浆， **10000 rpm,** 4℃ 离心 10 min, 取上清液，待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 660 nm, 蒸馏水调零。

2. 打开水浴锅，调节温度到 40℃ 。

3.1 mmol/L 标准溶液的配制：取 100μL10 mmol/L 磷标准液和 900μL 蒸馏水混合配制成 1mmol/L 的标准溶液。

4. 测定：

试剂名称 （μL）	空白管	标准管	测定管
标准液	_	50	_
上清液	_	_	50
蒸馏水	500	450	450
试剂三	500	500	500

混匀后置于 40℃ 水浴保温 10min，室温冷却 10min 后于 660nm 测定吸光度，分别记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管。空白管和标准管只需测 1-2 次。**注意：需在 40min 内完成比色。**

三、组织无机磷含量计算

无机磷含量(mmol/g 质量)= [C 标准液 ×(A 测定管 -A空白管) ÷(A 标准管 -A 空白管)] ×V 总 ÷W

=0.001×(A 测定管 -A 空白管) ÷(A 标准管 -A 空白管) ÷W

C 标准液： mmol/L;V 总：上清液总体积， mL=0.001L;W: 样本质量，g。

注意事项：

1、如果样本测定吸光值大于 0.8，需用蒸馏水做相应稀释。如果样本测定吸光值较低或接近空白值，建议增大样本量后重新进行测定。注意同步修改计算公式。

实验实例：

1、取 0. 1g 肝脏加入 1mL 试剂一，离心取上清之后按照测定步骤操作，测得 A 测定管 =0.789,A 空白管 =0.016, A 标准管 =0.429，按样本质量计算无机磷含量得：

无机磷含量 (mmol/g质量)=0.001×(A测定管 -A 空白管) ÷(A 标准管 -A空白管) ÷W

=0.001×(0.789-0.016)÷(0.429-0.016)÷0.1=0.019 mmol/g 质量