# 无机磷检测试剂盒(硫酸亚铁钼蓝比色法)

## 产品简介:

血清中的无机磷(Inorganic phosphorous)主要由 $H_2PO_4^-$和 $HPO_4^{2-}$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。

无机磷检测试剂盒(硫酸亚铁钼蓝比色法)是先经硫酸亚铁提纯蛋白，利用无机磷与钼酸铵结合生成磷钼酸铵，后者被硫酸亚铁还原成蓝紫色的复合物，通过分光光度计检测 640nm 处吸光度，根据公式计算出无机磷含量。本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:

| 编号 / 名称 | GCTC1039 50T | GCTC1039 100T | Storage |
|---|---|---|---|
| 试剂(A): 磷标准(1mg/ml) | 1ml | 2ml | 4℃ |
| 试剂(B): 标准品稀释液 | 25ml | 50ml | RT |
| 试剂(C): Pi Assay Buffer | 250ml | 500ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(D): 钼酸铵(粉末) | 0.66g | 1.32g | RT |
| 试剂(E): 钼酸铵稀释液 | 15ml | 30ml | RT |
| 使用说明书 | 1 份 | | |

## 自备材料:

1、 去离子水

2、 电子天平、离心管或试管、离心机、比色杯、分光光度计

## 操作步骤(仅供参考):

1、 (选做)制备样品:

①血浆、血清样品：取 0.1ml 待测血浆、血清样品，加入 2.4ml Pi Assay Buffer，充分混匀，室温静置 10min，3000g 离心 10min，取上清，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

②尿液样品：取适量的待测尿液，用 50%的盐酸调 pH 至 6.0，用蒸馏水做 1:10~20 稀释。取 0.1ml 稀释后的尿液样品，加入 2.4ml Pi Assay Buffer，充分混匀，室温静置 10min，3000g 离心 10min，取上清，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

③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，取 0.1ml 匀浆样品，

加入 2.4ml Pi Assay Buffer，充分混匀，室温静置 10min，3000g 离心 10min，取上清，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

④高浓度样品：如果样品中含有较高浓度的 Pi，可以使用去离子水稀释。

⑤(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)：标准品稀释液=1:24 的比例稀释，即获得磷标准(1.292mmol/L)；取 0.1ml 磷标准(1.292mmol/L)，加入 2.4ml Pi Assay Buffer，充分混匀，室温静置 10min，3000g 离心 10min，取上清，即为磷标准工作液，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

3、配制钼酸铵显色液：将钼酸铵粉末和钼酸铵稀释液按 0.44g：10ml 的比例混合溶解，即可使用。钼酸铵显色液不宜长期保存，一般配制后 4℃保存，2 周有效。

4、Pi 加样：按照下表设置空白管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，按下表操作。如果样品中的 Pi 含量过高，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 平行管，求平均值。

| 加入物(ml) | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
|---|---|---|---|
| Pi Assay Buffer | 2 | — | — |
| 处理后的磷标准工作液 | — | 2 | — |
| 处理后的待测上清液 | — | — | 2 |
| 钼酸铵显色液 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |

5、Pi 测定：混匀，室温静置 15min，以空白管调零，比色杯光径 1cm，分光光度计 640nm 处检测标准管、测定管的吸光度(即为 $A_{标准}$，$A_{测定}$)。

**计算：**

血清、血浆中无机磷计算公式：磷(mmol/L)=($A_{测定}$/$A_{标准}$)×1.292

尿液中无机磷计算公式：磷(mmol/d)=($A_{测定}$/$A_{标准}$)×1.292×N×24h 尿量(L)

组织中磷计算公式：磷(mmol/mg)=($A_{测定}$/$A_{标准}$)×1.292/待测样品蛋白浓度(mg/L)

式中：$A_{测定}$=待测管的吸光度

$A_{标准}$=标准管的吸光度

N=尿液稀释倍数

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：0.96~1.62mmol/L(3~5mg/dl)

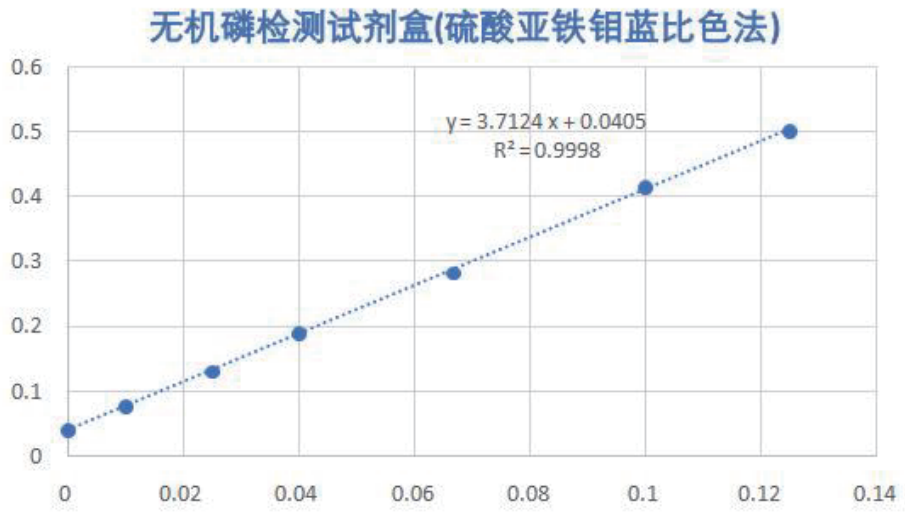
儿童血清磷浓度：1.45~2.1mmol/L(4.5~6.5mg/dl)

**注意事项:**

1、 溶血样本对检测有干扰，尽量避免采用溶血样本。
2、 本法能够用于自动生化分析仪终点检测法。
3、 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。
4、 本法测定的线性范围为 0.01~0.2mg/ml，检测下限为 0.005，检测上限为 1。
5、 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 个月有效。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，用分光光度计对系列磷标准(1/100、1/40、1/25、1/15、1/10、1/8 mg/ml)进行吸光度的测定，其标准曲线如下(仅供参考)：




**相关产品:**

| 产品编号 | 产品名称 |
|---|---|
| GCCC0007 | 磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁) |
| GCCS0001 | ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer) |
| GCDC0032 | Masson 三色染色液 |
| GCDP0013 | GUS 染色液(即用型) |
| GCDZ2011 | 环保浸蜡脱蜡透明液 |
| GCNR0001 | DEPC 处理水(0.1%) |
| GCPS0013 | RIPA 裂解液(强) |
| GCTC0713 | 葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法) |