无机磷检测试剂盒(米吐尔钼蓝微板法)

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(米吐尔钼蓝微板法)利用无机磷在酸性条件下与钼酸铵结合生成磷钼酸铵,后者被米吐尔还原成蓝紫色的复合物,通过酶标仪测定 650nm 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	GCTC1045 100T	Storage
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)	1ml	4℃
试剂(B): 标准品稀释液	1ml	RT 避光
试剂(C): 钼酸铵粉末	60mg	RT
试剂(D): 钼酸铵稀释液	10ml	RT
试剂(E): 米吐尔	50mg	RT 避光
试剂(F): 米吐尔稀释液	10ml	RT
试剂(G): Pi 去蛋白试剂(选做)	20ml	RT 避光
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、水浴锅或恒温箱或金属浴、96 孔板、酶标仪

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℃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℃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、配制磷标准工作液：取适量的磷标准(1mg/ml)，按磷标准(1mg/ml)：标准品稀释液=1:99 的比例稀释，即获得磷标准工作液(10μg/ml)，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

3、配制钼酸铵溶液：将钼酸铵粉末和钼酸铵稀释液按 60mg：10ml 的比例混合，充分溶解，不好溶解时可采取超声助溶。配好的钼酸铵溶液应 4℃避光保存，1 个月有效。

4、配制米吐尔溶液：将 50mg 米吐尔溶解于 25ml 去离子水中，再将米吐尔水溶液和米吐尔稀释液按 1:9 的比例充分混合。配好的米吐尔溶液应 4℃避光保存，1 个月有效。

5、Pi 加样：取离心管，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)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH_2O	100	—	—
磷标准工作液(10μg/ml)	—	100	—
待测样品	—	—	100
钼酸铵溶液	100	100	100
米吐尔溶液	100	100	100
沸水浴煮沸 30min，各管加去离子水 200μl，水中冷却至室温			

6、Pi 测定：按顺序依次加入到酶标板中，以空白孔调零，酶标仪 650nm 处测定标准孔、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=($A_{测定}/A_{标准}$)×0.323×N(mmol/L)

=($A_{测定}/A_{标准}$) ×10×N(mg/L)

组织中磷计算公式：磷(mmol/mg)=($A_{测定}/A_{标准}$)×0.323×N/c

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

c=待测样品蛋白浓度(mg/L)

单位换算：1 mg/dL=10 mg/L=10μg/mL=0.323mmol/L

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、 配好的钼酸铵溶液和米吐尔溶液应尽快使用，放置过久会导致正常血清液产生轻度浑浊，如试剂变蓝则不能使用。

2、 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。

3、 生成蓝色的深浅与 pH、时间和温度有密切关系，需仔细控制显色条件。

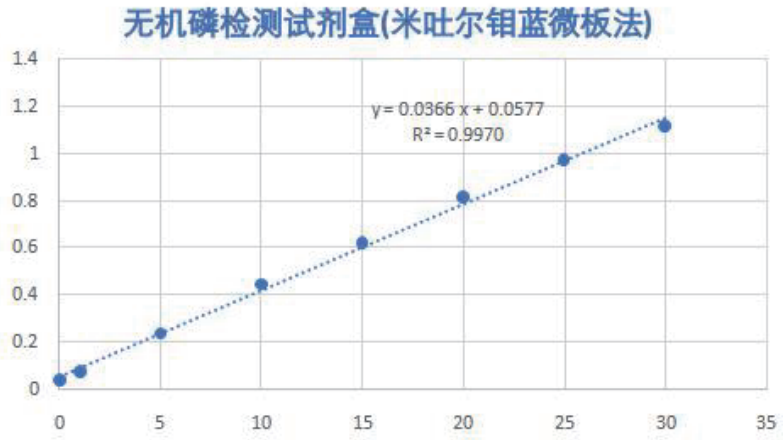
4、 本法的线性范围为 1~35μg/mL。

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 1: 利用本法检测血清白蛋白比值倒置的样品时，易导致浑浊，可对样品进行去蛋白处理。操作如下：取 0.1ml 待测血清，加入 0.9ml Pi 去蛋白试剂，充分混匀，低速离心，取上清液 0.05ml。磷标准工作液(10μg/mL)同样进行处理，其余同上述操作。

附录 2: 参考标准曲线范围：酶标仪 650nm 测定磷标准在 10μg/mL 时的吸光度多在 0.3~0.6 之间(以空白调零)。按说明书要求操作并测定磷标准在 0、1、5、10、15、20、25、30μg/mL 时的吸光度，其标准曲线如下:



相关产品:

产品编号	产品名称
GCCS0201	细胞线粒体分离试剂盒
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCDM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
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)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)