

无机磷检测试剂盒(米吐尔钼蓝比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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(米吐尔钼蓝比色法)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，通过分光光度计测定 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，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	规格	保存条件
无机磷检测试剂盒(米吐尔钼蓝比色法)	100T	4℃
试剂(A):磷标准(1mg/ml)	1ml	4℃
试剂(B):标准品稀释液	5ml	4℃避光
试剂(C):Pi Assay Buffer	220ml	RT
试剂(D):米吐尔	4×0.35g	RT
试剂(E):ddH ₂ O	2ml	RT
试剂(F):Pi 去蛋白试剂(选做)	100ml	4℃避光
使用说明书	1 份	
有效期	1 年	

自备材料：

- 1、离心管或试管
- 2、水浴锅或恒温箱
- 3、比色杯
- 4、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: 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 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=1:24 的比例稀释, 即获得磷标准工作液(1.292mmol/L), -20℃冻存, 用于 Pi 的检测。

3、配制米吐尔钼蓝显色工作液: 取 1 支 0.35g 的米吐尔, 充分溶解于 50mlPiAssayBuffer, 即为米吐尔钼蓝显色工作液。4℃避光保存, 一般建议 3 天内用完。

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, 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 平行管, 求平均值。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
ddH2O	0.05	—	—
磷标准工作液	—	0.05	—
待测样品	—	—	0.05
米吐尔钼蓝显色工作液	2	2	2

5、Pi 测定: 混匀, 37℃孵育 10min, 比色杯光径 1.0cm, 以空白调零, 分光光度计 650nm 处测定, 读取各管吸光度(即为 A 标准, A 测定)。

计算:

血清、血浆中无机磷计算公式: $\text{磷}(\text{mmol/L}) = (\text{A 测定} / \text{A 标准}) \times 1.292$ 组织中磷计算公式: $\text{磷}(\text{mmol/mg}) = (\text{A 测定} / \text{A 标准}) \times 1.292 / \text{待测样品蛋白浓度}(\text{mg/L})$ 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: $\text{mg/dl} = \text{mmol/L} / 0.323$

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、米吐尔钼蓝显色工作液配制后, 尽快使用, 放置过久会导致正常血清液产生轻度浑浊。

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。

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，可对样品进行取蛋白处理。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(1.292mmol/L)同样进行处理，其余同上述操作。

附录 2: 参考标准曲线范围：测定磷标准在 1.292mmol/L 时，通过分光光度计测定其吸光度多在 0.04~0.1 之间(以空白调零)。测定磷标准在 0.1615、0.323、0.646、0.969、1.292、2.584、5.168mmol/L 时吸光度，根据测算浓度在 0~0.5mmol/L 之间及在 5.168mmol/L 时其结果不可靠，以 0.646、0.969、1.292、2.584mmol/L 作出其标准曲线如下：

