

血清磷含量（磷钼酸法）检测试剂盒说明书

（货号：BP10161W 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

样品中的无机磷与钼酸作用生成磷钼酸，后者被还原成钼蓝，在 660nm 处有最大吸收峰，进而计算得出无机磷含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 1.5mL×1 支	4℃避光保存	
试剂三	粉体 4 瓶	4℃保存	每瓶： 1. 使用前甩几下使粉体落入底部； 2. 每瓶加 3mL 蒸馏水混匀溶解，一周内用完。
标准品	液体 0.5mL×1 支	4℃保存	1. 该标准品母液为 3.25mmol/L； 2. 使用前稀释 25 倍（取 20μl 标准品+480μl 试剂一）混匀，制成 0.13 mmol/L 磷标准品，待用。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、天平、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：取约 0.02mL 血清至 2mLEP 管中，加 0.38mL 的试剂一（即蛋白沉淀剂），3000rpm 室温离心 5min，取上清液检测。

2、检测步骤：

- ① 打开酶标仪，设置温度 25℃（若仪器无法控温，则等待仪器过自检程序即可），设定波长到 660nm。
- ② 所有试剂解冻至室温，按照试剂二：试剂三=1：9 配制反应 mix（4℃避光保存 2 天）。
- ③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂组分（μL）	测定管	标准管（仅测一次）	空白管（仅测一次）
样本	100		
标准品		100	
试剂一			100
反应 mix	100	100	100
混匀，室温放置 10min，于波长 660nm 处读取各管吸光度 A。			

【注】若样本 A 测定值接近空白管，可在样本前处理步骤中增加血清取样量 V1（如取 0.1mL 血清加 0.3mL 试剂一，混匀离心再取上清液检测），则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

$$\begin{aligned}\text{磷含量}(\text{mmol/L}) &= C_{\text{标准}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times V \div V_1 \\ &= 2.6 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})\end{aligned}$$

C 标准--磷标品浓度, 0.13 mmol/L; V--上清液总体积, 0.4mL;
V1--血清取样体积, 0.02mL;