

## 组织总磷含量检测试剂盒说明书

微量法

**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：BC2855

规格：100T/96S

**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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 22 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 7 mL×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 1 mL×1 支	2-8℃保存

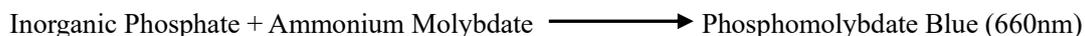
溶液的配制：

- 1、试剂一：强腐蚀性，强氧化性；易挥发，不使用时请及时盖紧盖子；
- 2、试剂三 A：临用前加入 5 mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8℃保存 4 周；
- 3、试剂三 B：临用前加入 5 mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8℃保存 4 周；
- 4、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**；
- 5、标准品：10mmol/L 无机磷标准液。

### 产品说明：

磷的存在形态包括无机磷与有机磷。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。通过测定总磷与无机磷含量即可了解作物对磷的利用率，进而为合理施肥提供依据。

总磷经消化后，转化成无机磷。钼蓝法是测定无机磷含量的经典方法，一定条件下，钼蓝与磷酸根生成660nm有特征吸收峰的物质，通过测定660nm光吸收，即可计算无机磷含量，进而可计算出组织中总磷含量。



### 技术指标：

最低检出限：0.0338 mmol/L

线性范围：0.625-8 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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96 孔板、蒸馏水和浓硫酸（99%）。

### 操作步骤:

#### 一、有机磷消化（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 组织于带盖试管中，加浓硫酸 1 mL，盖紧（封口膜封口，防止水分散失）后沸水浴 10min 左右，待溶液呈黑色或棕色时取出。稍冷后，加入 200 $\mu$ L 试剂一，充分混匀，盖紧后继续沸水浴，直到溶液呈透明状，取出室温冷却后，加蒸馏水 3.8 mL，充分混匀；10000rpm，室温离心 10min，取上清液，待测。

#### 二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 660 nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、打开水浴锅，调节温度到 40°C。
- 3、1 mmol/L 标准溶液的配制：取 100 $\mu$ L 10 mmol/L 磷标准液和 900 $\mu$ L 蒸馏水混合配制成 1mmol/L 的标准溶液。
- 4、样本测定：

试剂名称 ( $\mu$ L)	空白管	标准管	测定管
标准液	-	10	-
上清液	-	-	10
蒸馏水	100	90	90
试剂三	100	100	100

涡旋混匀，置于 40°C 水浴锅中准确保温 10min，室温冷却 10 min，于 660 nm 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。

#### 三、组织总磷含量计算

$$\begin{aligned} \text{总磷含量}(\text{mmol/g 质量}) &= [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白})] \times \text{V 总} \div \text{W} \\ &= 0.005 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \end{aligned}$$

C 标准液：1 mmol/L；V 总：上清液总体积，5 mL=0.005 L；W：样本质量，g。

#### 注意事项：

- 1、如果样本测定吸光值大于 1.5，需用蒸馏水做相应稀释后进行测定。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 小鼠肾脏按照提取步骤操作，离心取上清之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 A 测定管=0.191，A 空白管=0.051，A 标准管=0.282，按样本质量计算总磷含量得：

$$\text{总磷含量}(\text{mmol/g 质量}) = 0.005 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W} = 0.030 \text{ mmol/g 质量。}$$

- 2、取 0.1g 小鼠脾按照提取步骤操作，离心取上清之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 A 测定管=0.197，A 空白管=0.051，A 标准管=0.282，按样本质量计算总磷含量得：

$$\text{总磷含量}(\text{mmol/g 质量}) = 0.005 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W} = 0.032 \text{ mmol/g 质量。}$$

#### 相关系列产品：

- BC2860/BC2865 血清总铁结合能力（TIBC）检测试剂盒
- BC2810/BC2815 血锌浓度检测试剂盒
- BC2820/BC2825 水样中汞离子（Hg<sup>2+</sup>）浓度检测试剂盒
- BC2840/BC2845 组织无机磷含量检测试剂盒