

无机磷检测试剂盒(米吐尔钼蓝比色法)

产品简介：

血清中的无机磷(Inorganic phosphorous)主要由 H_2PO_4 和 HPO_4 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，二者浓度比例为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。

源叶生物无机磷检测试剂盒(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。通过分光光度计检测650nm处吸光度值，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：

	100T		
试剂(A): 磷标准(1mg/ml)	1ml	4°C	
试剂(B): 标准品稀释液	5ml	4°C 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°C 避光	

自备材料：

- 1、离心管或试管
- 2、水浴锅
- 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°C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°C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、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，即获得磷标准工作液(1.292mmol/L)，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

3、制备米吐尔钼蓝显色工作液：取 1 支 0.35g 的米吐尔，充分溶解于 50ml Pi Assay buffer，即为米吐尔钼蓝显色工作液。配制后的该溶液应 4℃避光保存，一般建议 1 周内用完。

4、Pi 检测：按下表操作。

加入物	空白管	标准管	测定管
ddH ₂ O/ml	0.05	—	—
磷标准工作液/ml	—	0.05	—
待测样品/ml	—	—	0.05
米吐尔钼蓝显色工作液/ml	2.0	2.0	2.0

5、混匀，37℃水浴 10min，分光光度计 650nm 处检测，比色杯光径 1.0cm，以空白管调零，读取各管吸光度值。

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

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}=待测管的吸光度值

A_{标准}=标准管的吸光度值

N=尿液稀释倍数

单位换算：mg/dl=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完成后，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： 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。

有效期： 12 个月有效。