



组织总磷含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

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：BC2850

规格：50T/48S

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 12 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 11 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 A	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 B	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

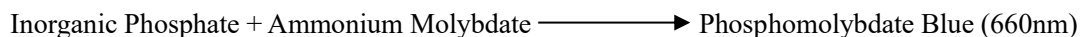
溶液的配制：

- 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 10mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8°C保存 4 周；
- 3、试剂三 B：临用前加入 10mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8°C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 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：0.0585 mmol/L

线性范围：0.0625-2 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、台式离心机、水浴锅、可调式移液枪、1mL 玻璃比色皿、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 0.1 g 组织于带盖试管中，加浓硫酸 1.0 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 μ 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、分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 660 nm，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 μ L 10 mmol/L 磷标准液和 900 μ 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 (μ L)	空白管	标准管	测定管
标准液	-	50	-
上清液	-	-	50
蒸馏水	500	450	450
试剂三	500	500	500

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

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

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 0.8，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，测得计算 A 测定=0.273, A 空白=0.016, A 标准=0.429，按样本质量计算总磷含量得：
总磷含量(mmol/g 质量)= 0.005 \times (A 测定管-A 空白管) \div (A 标准管-A 空白管) \div W= 0.031 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，测得计算 A 测定=0.268, A 空白=0.016, A 标准=0.429，按样本质量计算总磷含量得：
总磷含量(mmol/g 质量)= 0.005 \times (A 测定管-A 空白管) \div (A 标准管-A 空白管) \div W= 0.031 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（Hg²⁺）浓度检测试剂盒
- BC2840/BC2845 组织无机磷含量检测试剂盒