

血磷浓度检测试剂盒说明书

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：BC1650

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 70 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 10 mL×1 支	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

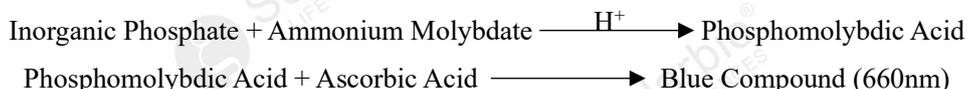
溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 10mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂 2-8°C保存 4 周。
- 2、试剂三：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、工作液的配制：临用前根据样本量按试剂二：试剂三：试剂四=0.5mL：0.5mL：0.5mL（共 1.5mL，约 3T）的比例配制，配好的工作液应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，限当天使用。（注意：配制工作液最好使用新的烧杯、玻璃棒和玻璃移液器，或者一次性塑料器皿，以避免磷污染。）
- 4、标准品：10mmol/L 磷标准溶液。

产品说明：

血磷主要指血中的无机磷，以无机磷盐的形式存在。血浆中钙、磷浓度关系密切，在以 mg/dL 表示时，二者的乘积（[Ca] × [P]）为 30~40。当（[Ca] × [P]）>40，则钙和磷以骨盐形式沉积于骨组织；若（[Ca] × [P]）<35 则妨碍骨的钙化，甚至可使骨盐溶解，影响成骨作用。血钙和血磷含量的相对稳定依赖于钙、磷的吸收与排泄和钙化及脱钙两种代谢的相对平衡。上述平衡受到维生素 D3、甲状旁腺素和降钙素等激素的调节。

去除血清中有机磷后，在酸性条件下，无机磷盐与钼酸铵试剂生成磷钼酸，被抗坏血酸还原后呈蓝色，在 660nm 有光吸收；通过测定 660nm 吸光度，计算血液中磷含量。



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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、离心机、可调式移液枪、1mL玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

血清预处理：吸取 50μL 血清，加 950μL 试剂一，混匀后 8000rpm，常温离心 10min，取上清液，待测。





二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min 以上，调节波长至660nm，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：取25 μ L 10 mmol/L无机磷，加入975 μ L蒸馏水，充分混匀，配制成0.25 mmol/L标准品使用，现用现配。（实验中每管需要250 μ L，为减小实验误差，故配制大体积。）
3. 样本测定：在1.5mLEP管中依次加入以下试剂

试剂名称 (μ L)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	250	-	-
标准品	-	250	-
上清液	-	-	250
试剂一	250	250	250
工作液	500	500	500

涡旋混匀，室温静置10min，于660nm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。**注意：需在40min内完成比色。**

三、血磷浓度计算

$$\text{血磷含量 (mmol/L)} = [C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})] \times F \\ = 5 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}$$

C 标准品：标准品的浓度，0.25mmol/L； F：（50 μ L 血清+950 μ L 试剂一） \div 50 μ L 血清=20。

注意事项：

- 1、测定过程中，应尽量避免溶血，因为红细胞中有有机磷酯进入血清后可被酶水解而使得血清无机磷含量增高；
- 2、如果样本吸光值大于 0.8，建议将样本用**试剂一**稀释后进行测定。如果样本吸光值过低或接近空白，建议调整血清和试剂一的比例重新提取或者调整加样表样本和试剂一的比例重新测定。

实验实例：

- 1、取大鼠血清按照测定步骤操作，使用 1mL 玻璃比色皿，测得 A 测定管=0.132，A 空白管=0.007，A 标准管=0.396，计算得：

$$\text{血磷含量 (mmol/L)} = 5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) = 1.607 \text{ mmol/L.}$$

相关发表文献：

[1] Wang Y, Jia X, Guo Z, Li L, Liu T, Zhang P, Liu H. Effect of dietary soybean saponin Bb on the growth performance, intestinal nutrient absorption, morphology, microbiota, and immune response in juvenile Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Front Immunol.* 2022 Dec 23;13:1093567. doi: 10.3389/fimmu.2022.1093567. PMID: 36618377; PMCID: PMC9816404.

[2] Chen W, Han Q, Liu Y, Wang Y, Liu F. Targeted perfusion adsorption for hyperphosphatemia using mixed matrix microspheres (MMMs) encapsulated NH₂-MIL-101(Fe). *J Mater Chem B.* 2021 Jun 2;9(22):4555-4566. doi: 10.1039/d1tb00329a. PMID: 34047320.

相关系列产品：

BC2770/BC2775 血钾浓度检测试剂盒

BC2790/BC2795 血镁浓度检测试剂盒

