**无机磷检测试剂盒(硫酸亚铁钼蓝微板法)**

 **产品简介：**

血清中的无机磷(Inorganic phosphorous)主要由H2PO4 和HPO4 两种磷酸根阴离子

组成，上述阴离子在在不同的 pH 环境下能快速相互转换。在- pH7.4 血2- 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。

无机磷检测试剂盒(硫酸亚铁钼蓝微板法)是先经硫酸亚铁提纯蛋白，利用无机磷与钼酸铵结合生成磷钼酸铵，后者被硫酸亚铁还原成蓝紫色的复合物，通过酶标仪检测640nm 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℃

 试剂(B): 标准品稀释液 10ml 4℃ 避 光

 试剂(C): Pi Assay buffer 80ml 4℃ 避 光

 试剂(D): 硫酸亚铁钼蓝显色液 3ml 4℃ 避 光

# 自备材料：

1、EP 管

2、离心机

3、酶标仪

**操作步骤**(仅供参考)**：**

1、(选做)制备样品：

①□血浆、血清样品：取 0.02ml 待测血浆、血清样品，加入 0.48ml Pi Assay buffer， 充分混匀，室温静置 10min，3000g 离心 10min，取上清，-20℃冻存，用于 Pi的检测。

②□尿液样品：取适量的待测尿液，用 50%的盐酸调 pH 至 6.0。用蒸馏水做 1:10-1:20 稀释。取 0.02ml 稀释后的尿液样品，加入 0.48ml Pi Assay buffer，充分混匀，室温静置 10min，3000g 离心 10min，取上清，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

③□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。取 0.02ml 匀浆样品，加入 0.48ml Pi Assay buffer，充分混匀，室温静置 10min，3000g 离心10min，取上清，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

④□高浓度样品：如果样品中含有较高浓度的 Pi，可以使用去离子水稀释。

⑤□(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(1.292mmol/L)。取 0.02ml 磷标准(1.292mmol/L)， 加入 0.48ml Pi Assay buffer，充分混匀，室温静置 10min，3000g 离心 10min，取上清，即为磷酸标准工作液，-20℃冻存，用于 Pi 的检测。

3、Pi 检测：按下表操作。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 加入物(μl)Pi Assay buffer | 空白管200 | 标准管— | 测定管— |
| 磷标准工作液 | — | 200 | — |
| 处理后的待测上清液 | — | — | 200 |
| 钼蓝显色液 | 25 | 25 | 25 |

4、混匀，室温静置 15min，酶标仪 640nm 处检测，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

尿液中无机磷计算公式：磷(mmol/d)=(A 测定/A 标准)×1.292×N×24h 尿量(L)

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、 溶血样本对检测有干扰，尽量避免采用溶血样本。

2、 本法能够用于自动生化分析仪终点检测法。

3、 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。

**有效期：** 12 个月有效。