

血清磷含量（磷钼酸法）检测试剂盒说明书

（微板法 96 样）

一、产品简介：

样品中的无机磷与钼酸作用生成磷钼酸，后者被还原成钼蓝，在 660nm 处有最大吸收峰，进而计算得出无机磷含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 1.5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉体 mg×4 支	4℃保存	用前甩几下使粉体落入底部，每支再加 3mL 蒸馏水混匀溶解，一周内用完。
标准品	液体 0.5mL×1 支	4℃保存	该标准品母液为 3.25mmol/L，用前取 0.02mL 标准品+0.48mL 试剂一（稀释 25 倍）混匀制成 0.13 mmol/L 磷标准品，待用。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、磷含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：取约 0.02mL 血清至 2mLEP 管中，加 0.38mL 的试剂一（即蛋白沉淀剂），3000rpm 室温离心 5min，取上清液检测。

2、上机检测：

- ① 酶标仪预热 30min，设定波长到 660nm。
- ② 所有试剂解冻至室温，按照试剂二：试剂三=1：9 配制反应 mix（4℃避光保存 2 天）。
- ③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	标准管（仅测一次）	空白管（仅测一次）
样本	100		
标准品		100	
试剂一			100
反应 mix	100	100	100
混匀，室温放置 10min，于波长 660nm 处读取各管吸光度 A。			

【注】若样本 A 测定值接近空白管，可在样本前处理步骤中增加血清取样量 V1（如取 0.1mL 血清加 0.3mL 试剂一，混匀离心再取上清液检测），则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

$$\text{磷含量}(\text{mmol/L}) = C \text{ 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times V \div V1$$

$$= 2.6 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白})$$

C 标准--磷标品浓度，0.13 mmol/L； V--上清液总体积，0.4mL； V1--血清取样体积，0.02mL；