

## 组织无机磷含量检测试剂盒（微量法）

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

### 测定意义：

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等，此外促进碳水化合物的合成、转化和转运。

### 测定原理：

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。

### 试剂组成和配制：

试剂一：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 5mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：粉剂×1 瓶，4℃ 避光保存。

临用前配制，加入 10 mL 蒸馏水，充分溶解后加入试剂二（全部），混匀。

标准品：液体×1 支。

### 无机磷提取：

按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一）进行冰浴匀浆。10000rpm，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

## 测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min, 调节波长到 660 nm, 蒸馏水调零。
2. 打开水浴锅, 调节温度到 40℃。
3. **空白管**: 取 0.5mL EP 管, 依次加入 100μL 蒸馏水, 100μL 试剂三, 混匀后置于 40℃水浴保温 10min, 室温冷却 10 min 后于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 空白管。
4. **标准管**: 取 0.5mL EP 管, 依次加入 10μL 标准液, 90μL 蒸馏水, 100μL 试剂三, 混匀后置于 40℃水浴保温 10min, 室温冷却 10 min 后于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 标准管。
5. **测定管**: 取 0.5mL EP 管, 依次加入 10μL 上清液, 90μL 蒸馏水, 100μL 试剂三, 混匀后置于 40℃水浴保温 10min, 室温冷却 10 min 后于 660 nm 测定吸光度, 记为 A 测定管。

**注意: 空白管和标准管只需测定一次。**

## 组织无机磷含量计算:

(1) 按照蛋白含量计算

$$\begin{aligned} \text{无机磷含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{Cpr} \\ &= 1 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

(2) 按照样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{无机磷含量}(\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) &= [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{W} \\ &= 1 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W} \end{aligned}$$

C 标准液: 1mmol/L;

V 总: 上清液总体积, 1mL=0.001 L;

W: 样品质量, g。

## 注意事项:

1. 试剂三需临用前配制, 并且当天使用完毕。
2. 40min 内完成比色。
3. 最低检出限为 10μmol/L。