

血磷浓度检测试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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：

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。

测定原理：

去除血清中有机磷后，无机磷盐与钼酸铵试剂生成磷钼酸，被硫酸亚铁还原后呈蓝色，在 620nm 有光吸收；通过测定 620 nm 吸光度，计算血液中磷含量。

自备仪器和用品：

离心机、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、和蒸馏水。

试剂组成和配置：

试剂一：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 1.6mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：粉剂×1 瓶，4℃ 保存。临用前配制，依次加入 11mL 蒸馏水充分溶解，再加入试剂二，充分混合。

标准液：液体×1 支，1 mmol/L 无机磷，4℃ 保存。

血磷浓度测定操作：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 620 nm，蒸馏水调零。
2. 取出标准液，室温解冻。
3. **血清预处理：**吸取 50 μL 血清，加 950μL 试剂一，混匀后室温 8000rpm，离心 10min，取上清液，待测。
4. **空白管：**取微量石英比色皿/96 孔板，依次加入 50μL 蒸馏水，50μL 试剂一，100μL 试剂三，混匀后静置 10min，于 620 nm 测定吸光度，记为 A 空白管。
5. **标准管：**取微量石英比色皿/96 孔板，依次加入 50μL 标准液，50μL 试剂一，100μL 试剂三，混匀后静置 10min，于 620 nm 测定吸光度，记为 A 标准管。
6. **测定管：**取微量石英比色皿/96 孔板，依次加入 50μL 上清液，50μL 试剂一，100μL 试剂三，混匀后静置 10min，于 620 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。

血磷浓度计算：

血磷含量 (mmol/dL) = [C 标准液 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管)] × 样品稀释倍数 × V 样总 = 2 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管)

C 标准液：1 mmol/L；样品稀释倍数：(50 μL 血清 + 950μL 试剂一) ÷ 50 μL 血清 = 20；V 样总：100 mL = 0.1 L。

注意事项：

- 1、试剂三需临用前配制，如未用完，4℃ 保存，最多可使用 3 天；
- 2、测定过程中，应尽量避免溶血，因为红细胞中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。

3、最低检出限为 $10 \mu\text{mol/L}$ 。