

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K245-S

产品规格: 50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计 (660 nm)

## **Elabscience<sup>®</sup>磷(Pi)比色法试剂盒(磷钼酸法)**

### **Phosphorus (Pi) Colorimetric Assay Kit (Phospho Molybdate Method)**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: [biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、组织样本中的磷的含量。

## 检测原理

无机磷与钼酸作用形成磷钼酸，在还原剂的作用下，磷钼酸被还原成钼蓝，在 660 nm 处有最大吸收峰，在一定范围内吸光度值与浓度成正比。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	25 mL×1 瓶	50 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	粉剂×2 瓶	粉剂×4 瓶	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 C (Chromogenic Agent C)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	蛋白沉淀剂 (Protein Precipitator)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	10 mmol/L 磷标准品 (10 mmol/L Phosphorus Standard)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8°C 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

## 所需自备物品

**仪器：**紫外-可见分光光度计（660 nm）

**试剂：**双蒸水、生理盐水(0.9% NaCl)

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制：

取一瓶试剂二，向其中加入 12.5 mL 双蒸水，充分溶解，2-8℃避光保存 5 天。

③ 试剂三工作液的配制：

取一瓶试剂三，向其中加入 25 mL 双蒸水，充分溶解，2-8℃保存 2 个月。

④ 显色剂工作液：

将双蒸水：试剂一：试剂二工作液：试剂三工作液按 2：1：1：1 的体积比混匀，现用现配，2-8℃避光保存 24 h。

⑤ 0.5 mmol/L标准品：

将试剂五：双蒸水按 1：19 的体积比混匀，现用现配，2-8℃保存 1 个月。

## 样本准备

### ① 样本处理

血清血浆等液体样本：直接进行测定。

组织样本：取 0.020-1.0 g 新鲜组织块，用 2-8°C 的生理盐水(0.9%NaCl)漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量(g): 体积(mL)=1: 9 的比例加入生理盐水(0.9%NaCl)，进行匀浆，4°C，10000 ×g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.005-2.0 mmol/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%小鼠肝匀浆	不稀释
人血浆	不稀释	10%小鼠心匀浆	不稀释
10%小鼠肾匀浆	不稀释		

注：稀释液为双蒸水。

## 操作步骤

- ① **上清液的制备**: 取 0.1 mL 血清(浆)或者 10%组织匀浆于 1.5 mL EP 管中, 加入 0.4 mL 试剂四, 充分混匀,  $1100 \times g$ , 离心 10 min, 取上清待测。
- ② **空白管**: 取 0.2 mL 双蒸水, 加入到 5 mL EP 管中。  
**标准管**: 取 0.2 mL 0.5 mmol/L 标准品, 加入到 5 mL EP 管中。  
**测定管**: 取 0.2 mL 待测样本, 加入到 5 mL EP 管中。
- ③ 向步骤①中各管加入 2.0 mL 显色剂工作液, 盖上盖子, 充分混匀。
- ④ 37°C 孵育 30 min。
- ⑤ 紫外分光光度计, 660 nm 处, 1 cm 光径石英比色皿, 双蒸水调零, 测定各管 OD 值。

## 操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (mL)	0.2	--	--
0.5 mmol/L 标准品 (mL)	--	0.2	--
样本上清液 (mL)	--	--	0.2
显色剂工作液 (mL)	2.0	2.0	2.0
充分混匀, 37°C 水浴或气浴 30 min, 冷却至室温, 紫外分光光度计, 660 nm 处, 1 cm 光径石英比色皿, 双蒸水调零, 测定各管 OD 值。			

本试剂盒检测组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用本公司 BCA 试剂盒 (货号 E-BC-K318-M) 进行测定。

## 结果计算

血清(浆)中磷浓度计算公式:

$$\text{Pi (mmol/L)} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times 5 \times f$$

组织中磷浓度计算公式:

$$\text{Pi (mmol/gprot)} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times c \times 5 \times f \div C_{pr}$$

注解:

$\Delta A_1$ : 测定 OD 值-空白 OD 值

$\Delta A_2$ : 标准 OD 值-空白 OD 值

c: 标准品浓度 (0.5 mmol/L)

5: 上清液制备过程中样本被稀释倍数

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

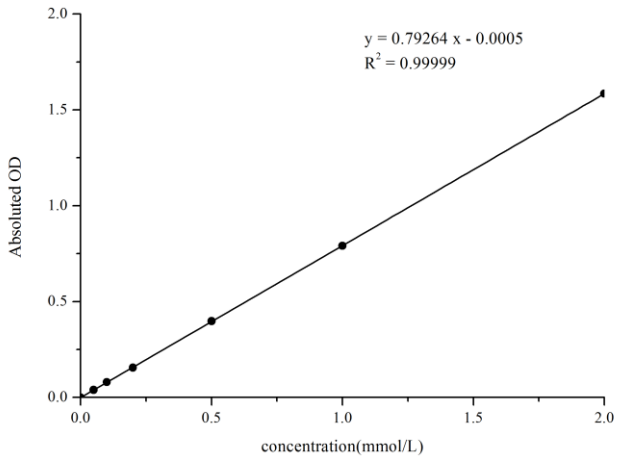
$C_{pr}$ : 样本蛋白浓度

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	0.005-2.0 mmol/L	平均批间差	1.3 %
灵敏度	0.005 mmol/L	平均批内差	1.0 %
平均回收率	102 %		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)



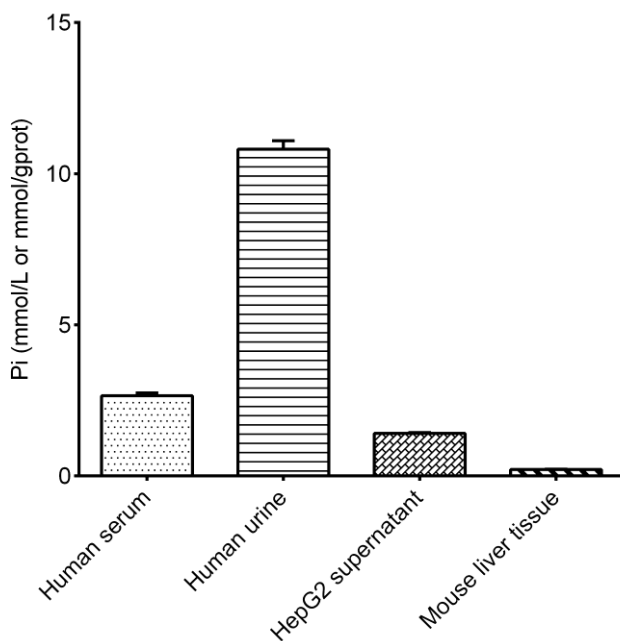
## 附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取0.1 mL人血清,按操作表操作,结果如下:空白管平均OD值为0.011,标准管平均OD值为0.373,测定管平均OD值为0.396,计算结果为:

$$\text{Pi (mmol/L)} = \frac{0.396-0.011}{0.373-0.011} \times 0.5 \times 5 \times 1 = 2.66 \text{ mmol/L}$$

按照操作过程,测定人血清(加样量0.2 mL)、人尿液(稀释2倍,加样量0.2 mL)、HepG2细胞上清(加样量0.2 mL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量11.99 gprot/L,加样量0.2 mL)中的磷含量(如下图):





### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果> 2.0 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

#### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

## 附录4 客户发表文献

1. Zeng B, Huang Y, Chen S, et al. Dextran sodium sulfate potentiates NLRP3 inflammasome activation by modulating the KCa3.1 potassium channel in a mouse model of colitis[J]. Cellular & Molecular Immunology. IF:22.096
2. Ruan F,Zeng J,Yin H, et al. RNA m6A Modification Alteration by Black Phosphorus Quantum Dots Regulates Cell Ferroptosis: Implications for Nanotoxicological Assessment[J]. Small Methods, 2021, 5(3): e2001045 IF:12.13
3. Tian H, Zhou L, Wang Y, et al. A targeted nanomodulator capable of manipulating tumor microenvironment against metastasis. J Control Release. 2022; 348:590-600. IF:11.467
4. Pan C, Yan M H, Jin H B, et al. Chronic exposure to MC-LR increases the risks of microcytic anemia: Evidence from human and mice[J]. Environmental Pollution, 2021, 288, 117966. IF:8.07
5. Gao W,Huang Z,Duan J, et al. Elesclomol induces copper-dependent ferroptosis in colorectal cancer cells via degradation of ATP7A[J]. Molecular Oncology. IF:6.603
6. Sun Z, Yue Z, Liu H, et al. Microbial-Assisted Wheat Iron Biofortification Using Endophytic *Bacillus altitudinis* WR10[J]. Frontiers in Nutrition, 2021:476-. IF:6.576
7. Yy A, Sw A, Kc A, et al. Upregulation of autophagy in M2 macrophage by vitamin D alleviates crystalline silica-induced pulmonary inflammatory damage[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 225. IF:5.248
8. Carafa V, Russo R, Della Torre L, et al. The Pan-Sirtuin Inhibitor MC2494 Regulates Mitochondrial Function in a Leukemia Cell Line[J]. Frontiers in Oncology, 2020, 10: 820. IF:4.848
9. Su B , Li A , Deng M R , et al. Transcriptome Analysis Reveals a Promotion of Carotenoid Production by Copper Ions in Recombinant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Microorganisms, 2021, 9(2):233. IF:4.128
10. Rana M. Adel, Rania A. Lotfy, Atef S. Darwish, et al. Destructive effect of iron overload in brain tissue of albino rats: Ameliorative role of silver immobilized organo-modified casein nanocomposite as co-treating agent with Deferasirox[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2021 Sep;67:126794. IF:3.849
11. Gao Q, Li X, Su S, et al. Deletion of the c2515 and c2516 genes affects iron uptake and virulence of APEC O1 strain E516[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2021, 8. IF:3.412

12. ul Haq M E, Akash M S H, Rehman K, et al. Chronic exposure of bisphenol A impairs carbohydrate and lipid metabolism by altering corresponding enzymatic and metabolic pathways[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020: 103387. IF:3.292
  13. Surendran V, Chiulli T, Manoharan S, et al. Acoustofluidic Micromixing Enabled Hybrid Integrated Colorimetric Sensing, for Rapid Point-of-Care Measurement of Salivary Potassium[J]. *Biosensors*, 2019, 9(2): 73. IF:3.24
  14. Elblehi SS, El-Sayed YS, Soliman MM, Shukry M. Date Palm Pollen Extract Avert Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy Fibrosis and Associated Oxidative/Nitrosative Stress, Inflammatory Cascade, and Apoptosis-Targeting Bax/Bcl-2 and Caspase-3 Signaling Pathways[J]. *Animals (Basel)*. 2021 Mar 20;11(3):886. doi: 10.3390/ani11030886. IF:2.752
  15. Mohammed M E, Abbas A M, Badi R M, et al. Effect of Acacia senegal on TGF- $\beta$ 1 and vascular mediators in a rat model of diabetic nephropathy[J]. *Archives of physiology and biochemistry*, 2020: 1-11. IF:2.575
- Soo T, See S, Bhassu S. Potential muscle activity disturbance in *Penaeus monodon* during Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) infection: Inference through gene expression, calcium concentration, and MicroRNA - ScienceDirect[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2020, 177. IF:2.074

