（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®磷(Pi)比色法测试盒(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

网址：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℃ 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℃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℃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℃ 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℃ 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-可见光分光光度计（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℃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℃，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 × 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℃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℃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：

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

组织中磷浓度计算公式：

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

注解：

ΔA_1：测定 OD 值-空白 OD 值

ΔA_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

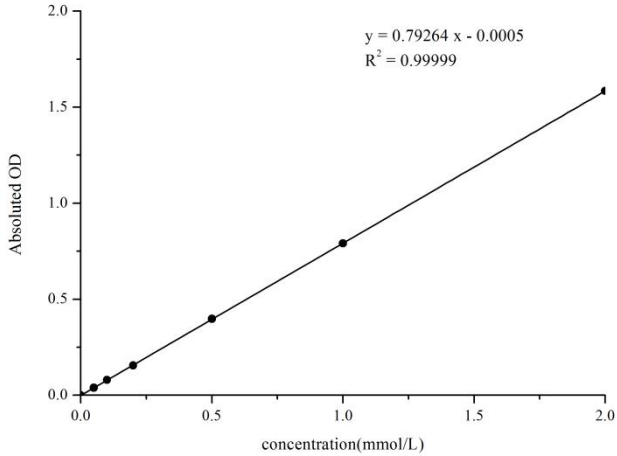
C_{pr}：样本蛋白浓度

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)



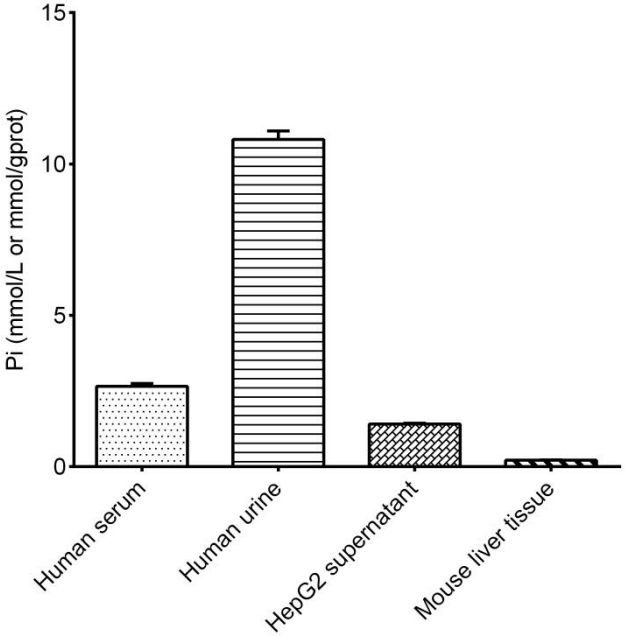
附录2 实例分析

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：

$$\text{Pi（mmol/L）}=\frac{0.396-0.011}{0.373-0.011}\times0.5\times5\times1=2.66\ \text{mmol/L}$$

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同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. Yang Y, Tan L, He S, et al. Sub-MIC vancomycin enhances the antibiotic tolerance of vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus through downregulation of protein succinylation[J]. Microbiological Research, 2024, 282(000): 8. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127635.
2. Sun Z, Yue Z, Liu H, et al. Microbial-Assisted Wheat Iron Biofortification Using Endophytic Bacillus altitudinis WR10[J]. Frontiers in Nutrition, 2021:476-. DOI: 10.3389/fnut.2021.704030.
3. Wang J Y, Hsu H Y, Liu S T, et al. Ammonia exposure impairs bone mineralization in zebrafish (Danio rerio) larvae[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2025, 287(000). DOI:10.1016/j.cbpc.2024.110040.
4. Sun Z, Feng X, Shi Y, et al. Sodium alginate improves phytase stability and enhances soil phosphorous utilization[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2024, 61(000). DOI: 10.1016/j.bcab.2024.103372.
5. Abo-Elenin M H H, Kamel R, Nofal S, et al. The crucial role of beta-catenin in the osteoprotective effect of semaglutide in an ovariectomized rat model of osteoporosis[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2025, 398(3):2677-2693. DOI: 10.1007/s00210-024-03378-z.