

# 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

$=2 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$

C 标准液：1 mmol/L；样品稀释倍数： $(50 \mu\text{L 血清} + 950 \mu\text{L 试剂一}) \div 50 \mu\text{L 血清} = 20$ ；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°C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酸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  $10 \mu\text{mol/L}$ 。