

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0888

Size: 100T/96S

## 组织总磷含量检测试剂盒说明书

### 微量法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义：

磷的存在形态包括无机磷与有机磷。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。通过测定总磷与无机磷含量即可了解作物对磷的利用率，进而为合理施肥提供依据。

#### 二、测定原理：

总磷经消化后，转化成无机磷。钼蓝法是测定无机磷含量的经典方法，一定条件下，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，进而可计算出组织中总磷含量。

#### 三、需自备的仪器和用品：

离心机、水浴锅、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、蒸馏水和浓硫酸。

#### 四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	强腐蚀性，强氧化性
试剂二	液体 7mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂×2 瓶	4℃避光保存	临用前配制，加入 5mL 蒸馏水，溶解后再加入 2.5mL 试剂二，混匀。
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	1mmol/L 无机磷标准液

## 五、操作步骤:

### ● 有机磷消化:

取带盖试管, 加入精确称取的约 0.1g 组织, 加浓硫酸 1 mL, 盖紧 (防止水分散失) 后沸水浴 10min 左右, 待溶液呈黑色或棕色时取出。稍冷后, 加试剂一 200  $\mu$ L, 充分混匀, 盖紧后继续沸水浴, 直到溶液呈透明状, 取出室温冷却后, 加蒸馏水 3.8 mL, 充分混匀; 室温, 10000rpm, 离心 10min, 取上清液, 待测。

### ● 测定:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长到 660 nm, 蒸馏水调零。
2. 打开水浴锅, 调节温度到 40°C。
3. 测定:

试剂名称 ( $\mu$ L)	空白管	标准管	测定管
标准液		10	
上清液			10
蒸馏水	100	90	90
试剂三	100	100	100

混匀后置于 40°C 水浴保温 10min, 室温冷却 10 min 后于 660 nm 测定吸光度, 分别记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管。

## 六、组织总磷含量计算:

总磷含量 (mmol /g FW) = [C 标准液  $\times$  (A 测定 - A 空白)  $\div$  (A 标准 - A 空白)]  $\times$  V 总  $\div$  W

= 0.005  $\times$  (A 测定 - A 空白)  $\div$  (A 标准 - A 空白)  $\div$  W

C 标准液: 1 mmol/L; V 总: 上清液总体积, 5 mL = 0.005 L。W: 样品质量, g。

## 七、注意事项：

- 1、试剂三需临用前配制，限当天使用。
- 2、测定前先用 1~2 个样品做预实验，如吸光值大于 1 时，需用蒸馏水做相应稀释。