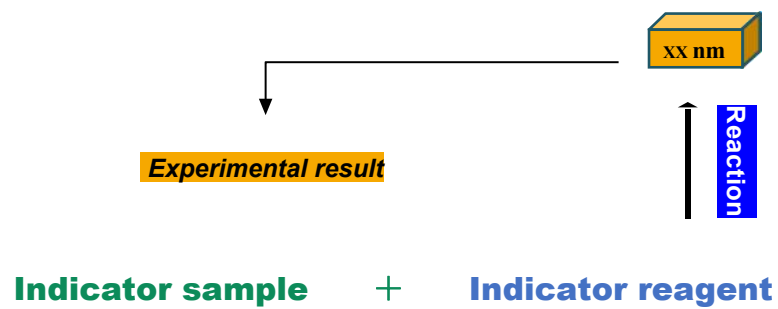


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

组织总磷含量检测试剂盒说明书

微量法

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。

产品内容：

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

产品说明：

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。

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。

自备仪器和用品：

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。

操作步骤：

一、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 μL，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。

二、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℃。

3. 测定:

试剂名称 (μL)	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℃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。

三、组织总磷含量计算:

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

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

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。

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。