

组织总磷含量检测试剂盒

Tissue Total Phosphorus Assay Kit

微量法

货号: AK263

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK263-A	20mL×1 瓶	4℃保存 (强腐蚀性, 强氧化性);
AK263-B	5mL×1 瓶	4℃保存;
AK263-C	粉剂×1 瓶	4℃避光保存。临用前配制, 加入 7.5mL 蒸馏水, 溶解后再加入 5mL AK263-B, 混匀, 限当天使用;
AK263-标准液	1mL×1 支	4℃保存 (20mmol/L 标准液);

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

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。

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。

自备用品:

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。

有机磷消化:

取带盖试管, 加入称取的约 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 AK263-A 200μL, 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 8.8 mL, 充分混匀; 室温, 8000g, 离心 10min, 取上清液待测。

测定步骤

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. 2 mmol/L 标准溶液的配制: 取 100 μL 20 mmol/L 标准液和 900 μL 蒸馏水混合配制成 2mmol/L 的标准溶液。
4. 在 EP 管中按顺序加入下列试剂

试剂名称	空白管 (μL)	标准管(μL)	测定管 (μL)
标准液(2mmol/L)		10	
上清液			10
蒸馏水	100	90	90
AK263-C	100	100	100

混匀后置 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。

注意: 空白管和标准管只需测定 1-2 次。

组织总磷含量计算公式：

$$\begin{aligned}\text{总磷含量 (mmol/mg prot)} &= [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{W} \\ &= 0.02 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}\end{aligned}$$

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

注： C 标准液：2 mmol/L； V 总：上清液总体积，10 mL=0.01 L； W：样品质量，g。

注意事项：

1. AK263-A 具有强腐蚀性，强氧化性，操作时一定要做好防护，戴手套操作，穿防护服。
2. AK263-C 需临用前配制，并且当天使用完毕。