

中性、碱性土壤速效磷含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10529

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|---------------|-------|
| 提取液 | 液体 125 mL×1 瓶 | 4°C保存 |
| 试剂一 | 粉剂×1 瓶 | 4°C保存 |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | 4°C保存 |
| 试剂三 | 液体 5 mL×1 瓶 | 室温保存 |
| 标准品 | 液体 1 mL×1 支 | 4°C保存 |

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前加入 5 mL 蒸馏水，溶解后 4°C保存一周；
- 2、试剂二：临用前加入 5 mL 蒸馏水，溶解后 4°C保存一周；
- 3、标准品：10 $\mu\text{mol/mL}$ 标准磷储备液；
- 4、工作液（定磷剂）的配制：按 H_2O ：试剂一：试剂二：试剂三=2:1:1:1 的比例配制，配好的工作液应为浅黄色。若变色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，工作液应现配现用。

注意：配试剂最好用新的烧杯、玻璃棒和玻璃移液器，也可以用一次性塑料器皿，避免磷污染。

产品说明：

速效磷是土壤中可被植物吸收的磷组分，包括全部水溶性磷、部分吸附态磷、一部分微溶性的无机磷和易矿化的有机磷等，土壤中速效磷是限制植物生长主要因子之一。

用弱碱法提取碱溶性磷和吸附态磷，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，即可计算磷含量。

技术指标：

最低检出限：0.018 $\mu\text{mol/mL}$ 线性范围：0.03125-3 $\mu\text{mol/mL}$ **注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

实验所需仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、天平、台式离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、30-50目筛、漩涡震荡仪、研钵、EP管、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样风干，过 30-50 目筛，按照土壤质量（g）：提取液体积(mL)为 1：10-20 的比例（建议称取约 0.05g 土样，加入 1mL 提取液），振荡提取 1h，10000g，25℃离心 10min，取上清液待测。

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至660nm，蒸馏水调零。
- 2、将10μmol/mL标准液用提取液稀释为3、2、1、0.5、0.25、0.125μmol/mL的标准溶液备用。
- 3、样本测定：(在1.5mL离心管中或96孔板依次加入下列试剂)

| | 测定管 | 标准管 | 空白管 |
|----------------------|-----|-----|-----|
| 样本（μL） | 20 | - | - |
| 标准溶液（μL） | - | 20 | - |
| 提取液（μL） | 40 | 40 | 60 |
| 工作液（μL） | 80 | 80 | 80 |
| H ₂ O（μL） | 60 | 60 | 60 |

充分混匀，25℃静置30min，将液体置于微量玻璃比色皿/96孔板中，测定660nm处吸光值A，分别记为A测定管、A标准管和A空白管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。（空白管只需测1-2次）

三、速效磷含量计算

1、标准曲线的绘制:

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 带入方程得到 x（μmol/mL）

2、速效磷含量的计算:

速效磷含量（μmol/g 土样）= $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) = x \div W$ 。

V 样：加入样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g。

注意事项:

- 1、工作液（定磷剂）应现配现用，正常颜色为浅黄色，如有变色或变蓝则均为失效。
- 2、此法具有微量、灵敏、快速的特点。所以对测定所用试管或 EP 管等试验器材均要求严格无磷。
- 3、显色结束后应立即检测。
- 4、如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
- 5、用 96 孔板检测时，注意板孔中的液体有无气泡，如有气泡应排除气泡后再测定 OD 值。