

中性、碱性土壤速效磷含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：AC10528

规格：50T/48S

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 80 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 15 mL×1 瓶	常温保存
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 15 mL 蒸馏水，溶解后 4°C保存一周；
- 2、试剂二：临用前加入 15 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：0.0042 $\mu\text{mol/mL}$ 线性范围：0.015625-2 $\mu\text{mol/mL}$ **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。

实验中所需仪器和用品：

可见分光光度计、天平、台式离心机、1mL玻璃比色皿、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2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625μmol/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）	100	-	-
标准溶液（μL）	-	100	-
提取液（μL）	200	200	300
工作液（μL）	400	400	400
H ₂ O（μL）	300	300	300

充分混匀，25℃静置30min。于1mL玻璃比色皿，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：

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

V 样：加入样本体积，0.1mL；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。