

## 酸性土壤速效磷试剂盒说明书

微量法 100T/96S

**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。

**测定意义**

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、部分吸附态磷及有机态磷，土壤中速效磷是限制植物生长主要因子之一。

**测定原理**

用双酸法提取酸溶性磷和吸附态磷，用钼锑抗比色法测定。

**自备实验用品及仪器**

天平、常温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、震荡仪。

**试剂组成和配制**

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 6mL×1 支，4℃ 保存。

试剂二：粉剂×1 支，4℃ 避光保存。临用前加 2mL 蒸馏水溶解。用不完的试剂 4℃ 保存。

试剂三：粉剂×3 支，4℃ 避光保存。临用前加 1mL 蒸馏水溶解。**现配现用。**

**样本处理**

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 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 土样，加入 1mL 提取液），振荡提取 30min，10000g，25℃ 离心 10min，取上清液待测。

**测定步骤**

1、显色液的配制（可测 50 个样）：取 EP 管一支，加入 660μL 试剂一，再加入 100μL 试剂二，充分混匀后，再加入 240μL 试剂三，充分混匀待用；配好的显色液应为黄色，若变蓝则为磷污染；显色液必须现配现用；若一次性测不了 50 个样，可按比例缩小各试剂体积。

**2、操作表**

	空白管	测定管
样本 (μL)		40
提取液 (μL)	40	
显色液 (μL)	20	20
H <sub>2</sub> O (μL)	140	140
充分混匀，25℃ 静置 30min		
于微量石英比色皿/96 孔板中，蒸馏水调零，测定 660nm 处吸光值 A，分别记为 A 空白管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管只要做一管。		

**计算公式**

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.1252x - 0.0041$ ， $R^2 = 0.9957$ ，x 为标准品浓度 (mg/L)，y 为吸光值。

$$\begin{aligned} \text{速效磷含量 (mg/kg 干重)} &= (\Delta A + 0.0041) \div 0.1252 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 7.987 \times (\Delta A + 0.0041) \div W \end{aligned}$$

V 样：样本体积，0.04mL；V 样总：加入提取液体积，1mL，W：样本质量，约 0.1g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.0626x - 0.0041$ ， $R^2 = 0.9957$ ，x 为标准品浓度 (mg/L)，y 为吸光值。

$$\begin{aligned}\text{速效磷含量 (mg/kg 干重)} &= (\Delta A + 0.0041) \div 0.0626 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 15.97 \times (\Delta A + 0.0041) \div W\end{aligned}$$

V 样：样本体积，0.04mL；V 样总：加入提取液体积，1mL，W：样本质量，约 0.1g

#### 注意事项

1. 配好的显色液当天用完，变蓝则不能使用。
2.  $\Delta A$  线性范围为：0.01-1.5。
3. 标准曲线线性范围为：0.1mg/L-20mg/L。