

中性、碱性土壤速效磷试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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

用弱碱性提取碱溶性磷和吸附态磷，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 105mL×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 1：20 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。

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 ₂ 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： $y = 0.1164x - 0.012$ ， $R^2 = 0.9958$ ，x 为标准品浓度 (mg/L)，y 为吸光值。

速效磷含量 (mg/kg 干重) = $(\Delta A + 0.012) \div 0.1164 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}})$

$$= 8.591 \times (\Delta A + 0.012) \div W$$

V 样：加入反应体系中样本体积，0.04mL；V 样总：加入提取液体积，1mL，W：样本质量，约 0.05g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.0582x - 0.012$ ， $R^2 = 0.9958$ ，x 为标准品浓度 (mg/L)，y 为吸光值。

$$\begin{aligned}\text{速效磷含量 (mg/kg 干重)} &= (\Delta A + 0.012) \div 0.0582 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 17.182 \times (\Delta A + 0.012) \div W\end{aligned}$$

V 样：加入反应体系中样本体积，0.04mL；V 样总：加入提取液体积，1mL，W：样本质量，约 0.05g

注意事项

1. 配好的显色液当天用完，变蓝则不能使用。
2. 最低检出限为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 。