

土壤总磷/有机磷/无机磷含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2890

规格：50T/24S

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 11 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前用蒸馏水稀释 10 倍后再用；
- 2、试剂三：临用前加入 10 mL 蒸馏水溶解，2-8℃可以保存 4 周；
- 3、试剂四：临用前加入 10 mL 蒸馏水溶解，2-8℃可以保存 4 周；
- 4、定磷试剂的配制：临用前按试剂二：试剂三：试剂四=1:1:1 的体积比配制。配好的定磷试剂应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，限当天使用。配制过程中，可能会产生黑色固体，其不影响结果，注意吸取时不要将黑色固体吸入。（注意：配制时最好使用新的烧杯、玻璃棒和玻璃移液器，或者一次性塑料器皿，以避免磷污染。）
- 5、标准品：10 μmol/mL 磷标准液。

产品说明：

土壤总磷包括有机磷和无机磷，其中无机磷能够直接被植物利用。土壤有机磷经过矿化分解而转化为无机磷。同时测定土壤总磷、有机磷和无机磷，可以全面反映土壤磷营养状况。

利用钼蓝法定磷。取一份土样，通过浸提法测定土壤无机磷含量；另外取一份土样，经高温灼烧后，土壤有机磷转化为无机磷，测得土壤总磷含量；总磷含量减去无机磷含量，即可计算出有机磷含量。

技术指标：

最低检出限：0.18 μmol/mL

线性范围：0.065-2.5 μmol/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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式水浴锅、分析天平、可调式移液器、550℃高温电炉、1mL玻璃比色皿、研钵、蒸馏水、30-50目筛子、100目筛子。

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）

1.无机磷：称取通过 30-50 目筛子的风干土样 0.1g，转移到 10mL 离心管，加入 10mL 试剂一，震荡混匀，然后置于 45°C 水浴 1h，8000rpm，25°C 离心 10min，取上清液一，用于无机磷含量测定。

2.总磷提取：取通过 100 目筛子的风干土样，550°C 灼烧 1h，冷却后称取约 0.1g，转移到 10mL 离心管，加入 10mL 试剂一，震荡混匀，然后置于 45°C 水浴 1h，8000rpm，25°C，离心 10min，取上清液二，用于总磷含量测定。

二、测定步骤

1、分光光度计预热 30min，调节波长到 660nm，蒸馏水调零。

2、1μmol/mL 标准溶液的配制：取 100μL 10 μmol/mL 磷标准液，加入 900μL 蒸馏水，充分混匀，配制成 1 μmol/mL 标准液使用，现用现配。

3、打开水浴锅，调节温度到 40°C。

4、**空白管：**取 EP 管，依次加入 **500μL 蒸馏水**，500μL 定磷试剂，混匀后置于 40°C 水浴保温 10min，室温冷却 10min 后于 660nm 测定吸光度，记为 A 空白管。空白管只需做 1-2 次。

5、**标准管：**取 EP 管，依次加入 **50μL 标准液**，**450μL 蒸馏水**，500μL 定磷试剂，混匀后置于 40°C 水浴保温 10min，室温冷却 10min 后于 660nm 测定吸光度，记为 A 标准管。标准管只需做 1-2 次。

6、**测定管：**取 EP 管，依次加入 **50μL 上清液一或者上清液二**，**450μL 蒸馏水**，500μL 定磷试剂，混匀后置于 40°C 水浴保温 10min，室温冷却 10min 后于 660nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

三、土壤磷含量计算

$$(1) \text{土壤无机磷含量} (\mu\text{g/g 土样}) = [C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})] \times V \text{ 总} \times 30.97 \div W \\ = 309.7 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

C 标准液：1μmol/mL；30.97：磷的相对原子质量；W：土壤样本质量，g；V 总：上清液一总体积，10mL。

$$(2) \text{土壤总磷含量} (\mu\text{g/g 土样}) = [C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})] \times V \text{ 总} \times 30.97 \div W \\ = 309.7 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$$

C 标准液：1μmol/mL；30.97：磷的相对原子质量；W：土壤样本质量，g；V 总：上清液二总体积，10mL。

$$(3) \text{土壤有机磷} (\mu\text{g/g 土样}) = \text{土壤总磷} - \text{土壤无机磷}$$

注意事项：

1、如果吸光值大于 1.0 时，样本需用蒸馏水做相应稀释。

2、空白管和标准管只需测定 1-2 次。

3、需在 40min 内完成比色。

相关发表文献：

[1] Li Y, Chi J, Ao J, Gao X, Liu X, Sun Y, Zhu W. Effects of Different Continuous Cropping Years on Bacterial Community and Diversity of Cucumber Rhizosphere Soil in Solar-Greenhouse. Curr Microbiol. 2021 Jun;78(6):2380-2390. doi: 10.1007/s00284-021-02485-x. Epub 2021 Apr 19. PMID: 33871692.

相关系列产品：

BC2880/BC2885 土壤无机磷（S-PHOS）含量检测试剂盒

BC2870/BC2875 土壤汞浓度检测试剂盒

BC2980/BC2985 土壤有效硫含量检测试剂盒

