

酸性土壤速效磷含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC2955

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, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 125 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	常温保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 临用前加入 5 mL 蒸馏水, 溶解后 2-8℃保存一周;
- 2、试剂二: 临用前加入 5 mL 蒸馏水, 溶解后 2-8℃保存一周;
- 3、标准品: 10 $\mu\text{mol/mL}$ 标准磷贮备液;
- 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、易矿化有机态磷以及某些已溶解的沉淀态磷酸盐, 土壤中速效磷是限制植物生长主要因子之一。

用双酸法提取酸溶性磷和吸附态磷, 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: 0.0061 $\mu\text{mol/mL}$ 线性范围: 0.03125-6 $\mu\text{mol/mL}$ **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。**需自备的仪器和用品:**

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、漩涡振荡仪、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，分光光度计用蒸馏水调零。
- 2、将10μmol/mL标准液用提取液稀释为3、2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625μmol/mL的标准溶液备用。
- 3、标准溶液稀释表：

序号	稀释前浓度 (μmol/mL)	标准液体积 (μL)	提取液体积 (μL)	稀释后浓度 (μmol/mL)
1	10	150	350	3
2	10	100	400	2
3	2	250	250	1
4	1	250	250	0.5
5	0.5	250	250	0.25
6	0.25	250	250	0.125
7	0.125	250	250	0.0625

备注：下述实验中每个标准管需要20μL标准溶液（注意不要在此步骤直接检测吸光度）

- 4、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)			20
工作液 (μL)	180	180	180
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：

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

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。

