

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°C保存。

试剂一：液体6mL×1支，4°C保存。

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

试剂三：粉剂×3支，4°C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°C离心10min，取上清液待测。

测定步骤

1. 取试剂三一支，加入1mL蒸馏水充分溶解待用。
2. 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。
3. 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°C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。

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

$V_{\text{样}}$: 样本体积, 0.04mL; $V_{\text{样总}}$: 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。

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

$V_{\text{样}}$: 样本体积, 0.04mL; $V_{\text{样总}}$: 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. ΔA 线性范围为: 0.01-1.5。
3. 标准曲线线性范围为: 0.1mg/L-20mg/L。