

土壤无机磷（S-PHOS）含量测定试剂盒说明书

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：

磷是植物必需大量元素。植物主要通过根系从土壤中获得磷元素。土壤磷包括有机磷和无机磷。土壤有机磷经过矿化分解而转化为无机磷，才能进一步被植物吸收利用。

测定原理：

从土壤中提取无机磷，在酸性环境中，通过钼蓝法定磷，即可计算出无机磷含量。

自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、台式离心机、可调式水浴锅，分析天平、可调式移液器、蒸馏水和100目筛子。

试剂组成和配制：

提取液：液体×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体×1瓶，4℃保存。

试剂三：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前配制，加入8mL蒸馏水，充分溶解后加入4mL试剂二，混匀。

标准品：液体×1支，20μmol/L无机磷标准液，4℃保存。

土壤无机磷提取：

取10mL离心管，加入精确称取的100目筛子过筛的风干土样约0.01g，加入1mL提取液，震荡混匀，然后置于40℃水浴浸提1h，8000g，25℃，离心10min，取上清液，待测。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热30 min以上，调节波长到660 nm，蒸馏水调零。
2. 打开水浴锅，调节温度到40℃。
3. **空白管：**取EP管，依次加入100μL蒸馏水，100μL试剂三，混匀后置于40℃水浴保温10min，室温冷却10 min后于660 nm测定吸光度，记为A空白管。
4. **标准管：**取EP管，依次加入10μL标准液，90μL蒸馏水，100μL试剂三，混匀后置于40℃水浴保温10min，室温冷却10 min后于660 nm测定吸光度，记为A标准管。
5. **测定管：**取EP管，依次加入10μL上清液，90μL蒸馏水，100μL试剂三，混匀后置于40℃水浴保温10min，室温冷却10 min后于660 nm测定吸光度，记为A测定管。

需在40min内完成比色。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

土壤无机磷含量计算公式：

a.使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

$$S\text{-PHOS} (\mu\text{mol/g 干重}) = [C\text{标准液} \times (A\text{测定} - A\text{空白}) \div (A\text{标准} - A\text{空白})] \times V\text{总} \div W$$

$$=0.02 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W$$

C标准液：20 μmol/L；V总： 总上清液体积，1 mL=0.001 L； W： 土壤样品质量， g。

b.使用96孔板测定的计算公式如下

$$S\text{-PHOS} (\mu\text{mol/g干重}) = [C_{\text{标准液}} \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times V_{\text{总}} \div W$$

$$=0.02 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W$$

C标准液：20 μmol/L； V总： 总上清液体积，1 mL=0.001 L； W： 土壤样品质量， g。

注意事项：

试剂三需临用前配制，限当天使用。试剂三配制过程中，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。

40min内完成比色。