

## 土壤总磷/有机磷/无机磷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：

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。

测定原理：

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。

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、550°C高温电炉、蒸馏水、100目筛子（可更小）。

试剂组成和配制：

试剂一：液体×1瓶，4°C保存。临用前用蒸馏水稀释10倍后再用。

试剂二：液体×1瓶，4°C保存。

试剂三：粉剂×1瓶，4°C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，20 μmol/L无机磷标准品，4°C保存。

土壤不同形态磷提取：

1. **无机磷：**称取通过100目筛子的风干土样0.01g，转移到1mL离心管，加入1mL试剂一，震荡混匀，然后置于45°C水浴1h，8000g，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0.01g，转移到1 mL离心管，加入1mL试剂一，震荡混匀，然后置于45°C水浴1h，8000g，25°C离心10min，取上清液二，用于总磷含量测定。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热30 min，调节波长到660 nm，蒸馏水调零。

2. 打开水浴锅，调节温度到40°C。

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°C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°C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上清液一或者上清液二，90μL蒸馏水，100μL试剂三，混匀后置于40°C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。

**注意：**空白管和标准管只需测定一次。

土壤磷含量计算：

a.使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

$$1. \text{土壤无机磷含量} (\mu\text{mol/g 干重}) = [\text{C标准液} \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白})] \times \text{V总} \div \text{W}$$
$$= 0.02 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W}$$

C标准液：20  $\mu\text{mol/L}$ ； W：土壤样品质量，g； V总：上清液一总体积，1 mL=0.001 L。

$$2. \text{土壤总磷含量} (\mu\text{mol/g 干重}) = [\text{C标准液} \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白})] \times \text{V总} \div \text{W}$$
$$= 0.02 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W}$$

C标准液：20  $\mu\text{mol/L}$ ； W：土壤样品质量，g； V总：上清液二总体积，1mL=0.001 L。

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

b.使用96孔板测定的计算公式如下

$$1. \text{土壤无机磷含量} (\mu\text{mol/g 干重}) = [\text{C标准液} \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白})] \times \text{V总} \div \text{W}$$
$$= 0.02 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W}$$

C标准液：20  $\mu\text{mol/L}$ ； W：土壤样品质量，g； V总：上清液一总体积，1 mL=0.001 L。 2. 土壤总磷含量 ( $\mu\text{mol/g 干重}$ ) = [C标准液  $\times$  (A测定 - A空白)  $\div$  (A标准 - A空白)]  $\times$  V总  $\div$  W

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

C标准液：20  $\mu\text{mol/L}$ ； W：土壤样品质量，g； V总：上清液二总体积，1mL=0.001 L。

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

注意事项：

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。