

## 中性、碱性土壤速效磷试剂盒说明书

### 微量法100T/96S

#### 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：

用弱碱性提取碱溶性磷和吸附态磷，用钼锑抗比色法测定。

#### 自备仪器和样品：

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105mL×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1：20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°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
H2O（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。

### 中性、碱性土壤速效磷试剂盒说明书计算公式

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.1164x - 0.012$ ， $R^2 = 0.9958$ ，x为标准品浓度（mg/L），y为吸光值。

$$\begin{aligned} \text{速效磷含量 (mg/kg干重)} &= (\Delta A + 0.012) \div 0.1164 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 8.591 \times (\Delta A + 0.012) \div W \end{aligned}$$

V样：加入反应体系中样本体积，0.04mL；V样总：加入提取液体积，1mL，W：样本质量，约0.05g

b. 用96孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.0582x - 0.012$ ， $R^2 = 0.9958$ ，x为标准品浓度（mg/L），y为吸光值。

$$\begin{aligned} \text{速效磷含量 (mg/kg干重)} &= (\Delta A + 0.012) \div 0.0582 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 17.182 \times (\Delta A + 0.012) \div W \end{aligned}$$

V样：加入反应体系中样本体积，0.04mL；V样总：加入提取液体积，1mL，W：样本质量，约0.05g

### 注意事项

1. 配好的显色液当天用完，变蓝则不能使用。
2. 最低检出限为0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。