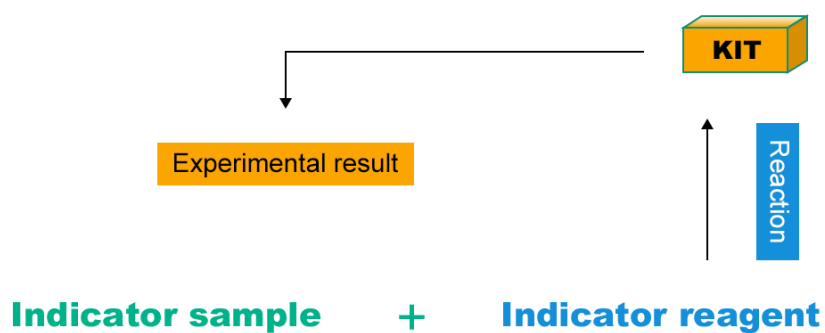


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0559

Size: 100T/96S

中性、碱性土壤速效磷含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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、一部分微溶性的无机磷和易矿化的有机磷等，土壤中速效磷是限制植物生长主要因子之一。

二、测定原理：

用弱碱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。

三、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、20 目筛、漩涡振荡仪、EP 管、蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 125mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃避光保存	临用前加入 5mL 双蒸水，溶解后 4℃保存一周
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃避光保存	临用前加入 5mL 双蒸水，溶解后 4℃保存一周
试剂三	液体 5mL×1 瓶	室温保存	
标准品	10 μmol/mL 标准磷贮备液 1mL ×1 支	4℃保存	
工作液	35mL 棕色空瓶×1 瓶	—	
工作液（定磷剂）的配制：按 H2O：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。

五、操作步骤：

● 样本处理：

新鲜土样风干，过 20 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。

● 测定步骤：

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

2、将 10 μmol/mL 标准液用提取液稀释为 6、4、2、1、0.5、0.25 μmol/mL 的标准溶液备用。

3、操作表：（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
样品 (μL)	20	—	—
标准溶液 (μL)	—	20	—
提取液 (μL)	40	40	60
工作液 (μL)	80	80	80
H2O (μL)	60	60	60
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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ ，空白管只需测一次。			

六、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 ($\mu\text{mol/mL}$)

2、速效磷含量的计算：

$$\text{速效磷含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) = x \div W。$$

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。

七、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、当 ΔA 大于 1 时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定。
- 5、用 96 孔板检测时，注意板孔中的液体有无气泡，如有气泡应排除气泡后再测定 OD 值。