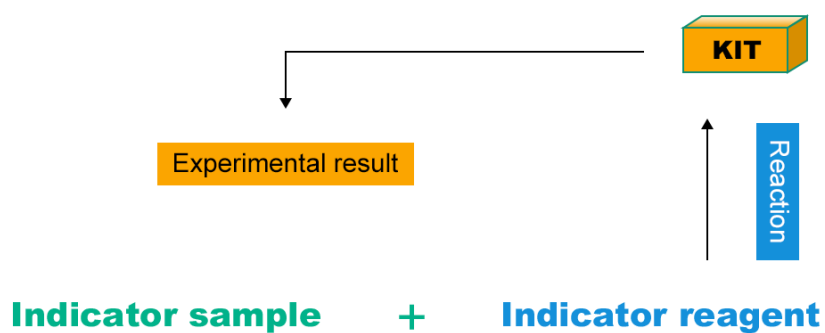


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0737

Size: 50T/48S

土壤总磷/有机磷/无机磷含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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：

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。

二、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。

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、可调式水浴锅，分析天平、可调式移液器、550℃高温电炉，1mL 玻璃比色皿、蒸馏水、100 目筛子（可更小）。

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
试剂一	液体×1 瓶	4℃保存	临用前用蒸馏水稀释 10 倍后再用
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 20mL 蒸馏水，充分溶解后加入 10mL 试剂二，混匀。
标准品	液体×1 支	4℃保存	20 μmol/L 无机磷标准品

五、操作步骤：

● 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 0.1g，转移到 10 mL 离心管，加入 10mL 试剂一，震荡混匀，然后置于 45℃ 水浴 1h，8000g，25℃ 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℃ 灼烧 1h，冷却后称取约 0.1g，转移 10 mL 离心管，加入 10mL 试剂一，震荡混匀，然后置于 45℃ 水浴 1h，8000g，25℃，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℃。
3. 空白管：取 EP 管，依次加入 500 μL 蒸馏水，500 μL 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 50 μL 标准液，450 μL 蒸馏水，500 μL 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 50 μL 上清液一或者上清液二，450 μL 蒸馏水，500 μL 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。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

六、土壤磷含量计算：

1. 土壤无机磷含量 (μmol /g) = [C 标准液 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管)] × V 总 ÷ W = 0.2 × (A 测定管 - A 空白管) ÷ (A 标准管 - A 空白管) ÷ W

C 标准液：20 μmol/L；W：土壤样品质量，g；V 总：上清液一总体积，10 mL=0.01L。

2. 土壤总磷含量 ($\mu\text{mol/g}$) = $[C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})]$
 $\times V \text{ 总} \div W = 0.2 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$

C 标准液: $20 \mu\text{mol/L}$; V 标准液: $50 \mu\text{L} = 0.05 \text{ mL}$; W: 土壤样品质量, g; V 总: 上清液二总体积, $10 \text{ mL} = 0.01 \text{ L}$ 。

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

七、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。