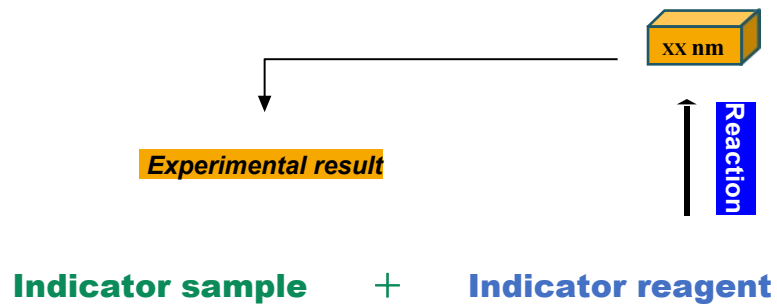


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 中性、碱性土壤速效磷含量检测试剂盒说明书 微量法

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

产品内容：

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。

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 H<sub>2</sub>O：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。

产品说明：

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。

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。

试验中所需的仪器和试剂：

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、漩涡震荡仪、EP 管、蒸馏水。

操作步骤:

一、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°C离心 10min, 取上清液待测。

二、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
H <sub>2</sub> O (μL)	60	60	60
充分混匀, 25°C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。			

三、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  $\Delta A$  标准为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程  $y=kx+b$ , 将  $\Delta A$  带入方程得到 x (μmol/mL)

2、速效磷含量的计算:

速效磷含量 (μmol /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。

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  $\Delta A$  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。