

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

土壤总磷/有机磷/无机磷含量测定试剂盒说明书 可见分光光度法

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。

试剂组成和配制：

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20 mL蒸馏水，充分溶解后加入10 mL试剂二，混匀。
标准品	液体×1 支	4℃保存	20 μ mol/L无机磷标准品

产品说明：

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。

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、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）。

操作步骤：

一、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。

二、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。

三、土壤磷含量计算：

1. 土壤无机磷含量 ($\mu\text{mol/g}$) = $[C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})] \times V_{\text{总}} \div W$
 $= 0.2 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$

C 标准液：20 $\mu\text{mol/L}$ ； W：土壤样品质量，g； V 总：上清液一总体积，10 mL=0.01 L。

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 μL =0.05 mL； W：土壤样品质量，g； V 总：上清液二总体积，10 mL=0.01 L。

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