

酸性土壤速效磷试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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。

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：

用双酸法提取酸溶性磷和吸附态磷，用钼锑抗比色法测定。

自备实验用品及仪器：

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 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 6mL×1 支，4℃ 保存。

试剂二： 粉剂×1 支，4℃ 避光保存。临用前加 2mL 蒸馏水溶解。用不完的试剂 4℃ 保存。

试剂三： 粉剂×3 支，4℃ 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 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 土样，加入 1mL 提取液），振荡提取 30min，10000g，25℃ 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
H ₂ O（μL）	140	140
充分混匀，25℃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。		

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： $y = 0.1252x - 0.0041$ ， $R^2 = 0.9957$ ， x 为标准品浓度（mg/L）， y 为吸光值。

$$\begin{aligned}\text{速效磷含量 (mg/kg 干重)} &= (\Delta A + 0.0041) \div 0.1252 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 7.987 \times (\Delta A + 0.0041) \div W\end{aligned}$$

$V_{\text{样}}$ ：样本体积，0.04mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL， W ：样本质量，约 0.1g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.0626x - 0.0041$ ， $R^2 = 0.9957$ ， x 为标准品浓度（mg/L）， y 为吸光值。

$$\begin{aligned}\text{速效磷含量 (mg/kg 干重)} &= (\Delta A + 0.0041) \div 0.0626 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 15.97 \times (\Delta A + 0.0041) \div W\end{aligned}$$

$V_{\text{样}}$ ：样本体积，0.04mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL， W ：样本质量，约 0.1g

注意事项：

1. 配好的显色液当天用完，变蓝则不能使用。
2. ΔA 线性范围为：0.01-1.5。
3. 标准曲线线性范围为：0.1mg/L-20mg/L。