

## 土壤速效磷含量试剂盒说明书

(货号: G0342W 微板法 96 样)

### 一、产品简介:

植物吸收的磷主要是  $H_2PO_4^-$  的形态, 因此土壤中速效磷含量是评价土壤对作物磷供应能力的一种手段, 对于施肥有着直接的指导意义。

本试剂盒采用钼锑抗混合显色剂还原土壤中的速效磷, 使黄色的钼锑抗还原为磷钼兰, 在 700nm 下吸光值的大小与土壤中速效磷的含量成正比。

### 二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	粉体 g×2 瓶	常温保存	临用前取一瓶转移全部粉末至盛有 450mL 蒸馏水的蓝盖瓶中, 再向原试剂瓶中加入 50mL 蒸馏水涮洗瓶子后全部转移至蓝盖瓶中, 重复操作一次。总体积为 0.55L, 混匀溶解后 15 天内用完。
试剂一	粉体 g×1 瓶	常温保存	
试剂二	A: 粉体 mg×1 支 B: 液体 8mL ×1 瓶 C: 粉体 mg×4 支	常温保存	临用前向 A 中加 1.3mL 蒸馏水溶解后, 全部加入 B 中, 再加 3.84mL 蒸馏水, 混匀得到 AB 液 (常温可保存 15 天)。每支 C 中加入 3mL AB 液混合, 得到试剂二 (一天内用完)。
标准品	液体 mL×1 支	常温保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

**【注】:** 全程操作需无磷环境; 试剂配置最好用新的枪头和玻璃移液器等, 也可以用一次性塑料器皿, 免磷污染。

### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调试移液器、水浴锅、震荡器。

### 四、土壤速效磷含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 1、样本制备:

称取通过 40 目筛的风干土样 0.5g (精确称量至 0.001g) 于 10mL 有盖离心管中, 加入一勺 (约 0.05g) 的试剂一, 加入 10mL 的提取液, 盖紧, 水平放置在震荡器上室温 200rpm 往复震荡培养 30min, 用无磷滤纸过滤, 滤液收集至新的 10mL 离心管中, 立即进行测定。

#### 2、上机检测:

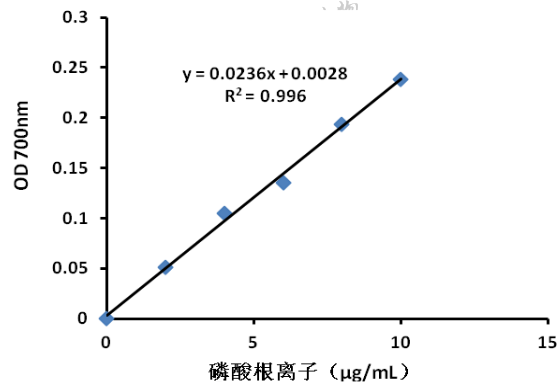
- ① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 700nm。
- ② 在 EP 中依次加入下列试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	200	
提取液		200
试剂二 (逐滴加入, 防止溢出)	100	100
观察产生大量气泡, 停止冒泡后, 盖上管盖上下摇晃后小心打开盖子放气, 重复操作 2-3 次, 将气泡全部排出。		
蒸馏水	700	700

混匀，室温静置 30min 后，取出 200 $\mu$ L 至 96 孔板中，于 700nm 下读取各管吸光值 A， $\Delta A=A$  测定-A 空白。

## 五、结果计算：

- 1、标准曲线方程： $y = 0.0236x + 0.0028$ ，x 是标准品摩尔质量 ( $\mu\text{g/mL}$ )，y 是  $\Delta A$ 。



- 2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{土壤速效磷含量}(\mu\text{g/g}) &= [(\Delta A - 0.0028) \div 0.0236 \times V] \div W \\ &= 423.7 \times (\Delta A - 0.0028) \div W \end{aligned}$$

V--加入提取液体积，10mL；

W--样本质量，0.5g。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（50 $\mu\text{g/mL}$  的磷）。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 2, 4, 6, 8, 10.  $\mu\text{g/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的操作方法在 EP 管中加入不同浓度的标准品 200 $\mu\text{L}$ ，提取液 200 $\mu\text{L}$ ，试剂二 100 $\mu\text{L}$ ，蒸馏水 500 $\mu\text{L}$ 。根据结果即可制作标准曲线。