

土壤总磷/有机磷/无机磷含量测定试剂盒说明书

微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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。

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。

试剂组成和配制：

产品名称	SSQ055-100T/96S	Storage
试剂一：液体	1 瓶	4°C
试剂二：液体	1 瓶	4°C
试剂三：粉剂	1 瓶	4°C避光
标准品：液体	1 支	4°C
说明书	一份	

试剂一：液体×1 瓶，4°C保存。临用前用蒸馏水稀释 10 倍后再用。

试剂三：粉剂×1 瓶，4°C避光保存。临用前配制，加入 8ml 蒸馏水，充分溶解后加入 4ml 试剂二，混匀。

标准品：液体×1 支，20 μmol/L 无机磷标准品，4°C保存。

自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、台式离心机、可调式水浴锅，分析天平、可调式移液器、550°C高温电炉、蒸馏水、100 目筛子（可更小）。

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 0.01g，转移到 1ml 离心管，加入 1ml 试剂一，震荡混匀，然后置于 45°C水浴 1h，8000g，25°C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°C灼烧 1h，冷却后称取约 0.01g，转移到 1 ml 离心管，加入 1ml 试剂一，震荡混匀，然后置于 45°C水浴 1h，8000g，25°C离心 10min，取上清液二，用于总磷含量测定。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 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°C。
3. 空白管: 取 EP 管, 依次加入 100μl 蒸馏水, 100μl 试剂三, 混匀后置于 40°C 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 10μl 标准液, 90μl 蒸馏水, 100μl 试剂三, 混匀后置于 40°C 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 10μl 上清液一或者上清液二, 90μl 蒸馏水, 100μl 试剂三, 混匀后置于 40°C 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。

土壤磷含量计算:

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 土壤无机磷含量 ($\mu\text{mol/g}$ 干重) = $[C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白})] \times V \text{ 总} \div W = 0.02 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W$
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, 1 ml=0.001 L。
2. 土壤总磷含量 ($\mu\text{mol/g}$ 干重) = $[C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白})] \times V \text{ 总} \div W = 0.02 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W$
C 标准液: 20 $\mu\text{mol/L}$; W: 土壤样品质量, g; V 总: 上清液二总体积, 1ml=0.001 L。
3. 土壤有机磷 ($\mu\text{mol/g}$ 干重) = 土壤总磷 - 土壤无机磷

b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 土壤无机磷含量 ($\mu\text{mol/g}$ 干重) = $[C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白})] \times V \text{ 总} \div W = 0.02 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W$
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, 1 ml=0.001 L。
2. 土壤总磷含量 ($\mu\text{mol/g}$ 干重) = $[C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白})] \times V \text{ 总} \div W = 0.02 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W$
C 标准液: 20 $\mu\text{mol/L}$; W: 土壤样品质量, g; V 总: 上清液二总体积, 1ml=0.001 L。
4. 土壤有机磷 ($\mu\text{mol/g}$ 干重) = 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。

