

## 中性、碱性土壤速效磷试剂盒说明书

### 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：

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：

用弱碱性提取碱溶性磷和吸附态磷，用钼锑抗比色法测定。

#### 试剂组成和配制：

产品名称	SSQ075-100T/96S	Storage
提取液：液体	105ml	4°C
试剂一：液体	6ml	4°C
试剂二：粉剂	1 支	4°C避光
试剂三：粉剂	3 支	4°C避光
说明书	一份	

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

试剂三：粉剂×3 支，4°C避光保存。临用前加 1ml 蒸馏水溶解。现配现用。

#### 自备仪器和用品：

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。

#### 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: 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。

#### 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 <sub>2</sub> O (μl)	140	140
充分混匀, 25°C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。		

**注意事项:**

- 1、配好的显色液当天用完, 变蓝则不能使用。
- 2、最低检出限为 0.2μg/ml。

**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:  $y = 0.1164x - 0.012$ ,  $R^2 = 0.9958$ , x 为标准品浓度 (mg/L), y 为吸光值。

$$\begin{aligned} \text{速效磷含量 (mg/kg 干重)} &= (\Delta A + 0.012) \div 0.1164 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 8.591 \times (\Delta A + 0.012) \div W \end{aligned}$$

V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.04ml; V 样总: 加入提取液体积, 1ml, W: 样本质量, 约 0.05g

**b. 用 96 孔板测定的计算公式如下**

标准曲线:  $y = 0.0582x - 0.012$ ,  $R^2 = 0.9958$ , x 为标准品浓度 (mg/L), y 为吸光值。

$$\begin{aligned} \text{速效磷含量 (mg/kg 干重)} &= (\Delta A + 0.012) \div 0.0582 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 17.182 \times (\Delta A + 0.012) \div W \end{aligned}$$

V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.04ml; V 样总: 加入提取液体积, 1ml, W: 样本质量, 约 0.05g

