

土壤速效磷含量试剂盒说明书

(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 3mLAB 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。

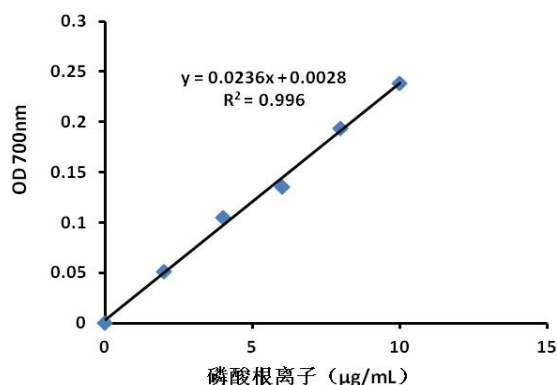
② 在 EP 中依次加入下列试剂：

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 μ 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 ΔA 。



2、按样本质量计算：

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

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 μL ，提取液 200 μL ，试剂二 100 μL ，蒸馏水 500 μL 。根据结果即可制作标准曲线。