

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

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：

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。

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℃ 高温电炉、蒸馏水、100 目筛子（可更小）。

试剂组成和配制：

试剂一：液体×1 瓶，4℃ 保存。临用前用蒸馏水稀释 10 倍后再用。

试剂二：液体×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：粉剂×1 瓶，4℃ 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℃ 保存。

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℃ 水浴 1h，8000g，25℃ 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℃ 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℃ 水浴 1h，8000g，25℃ 离心 10min，取上清液二，用于总磷含量测定。

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℃。

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℃ 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℃ 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℃ 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 (μmol/g 干重) = [C 标准液 × (A 测定 - A 空白) - (A 标准 - A 空白)] × V 总

÷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 μmol/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 (μmol/g 干重) = [C 标准液 × (A 测定 - A 空白) ÷ (A 标准 - A 空白)] × V 总 ÷ 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 μmol/L; W: 土壤样品质量, g; V 总: 上清液二总体积, 1 mL=0.001 L。

3. 土壤有机磷 (μmol/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 (μmol/g 干重) = [C 标准液 × (A 测定 - A 空白) ÷ (A 标准 - A 空白)] × V 总

÷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 μmol/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 (μmol/g 干重) = [C 标准液 × (A 测定 - A 空白) ÷ (A 标准 - A 空白)] × V 总 ÷ 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 μmol/L; W: 土壤样品质量, g; V 总: 上清液二总体积, 1 mL=0.001 L。

3. 土壤有机磷 (μmol/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。