

土壤无机磷（S-PHOS）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：

磷是植物必需大量元素。植物主要通过根系从土壤中获得磷元素。土壤磷包括有机磷和无机磷。土壤有机磷经过矿化分解而转化为无机磷，才能进一步被植物吸收利用。

测定原理：

从土壤中提取无机磷，在酸性环境中，通过钼蓝法定磷，即可计算出无机磷含量。

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、蒸馏水和 100 目筛子。

试剂组成和配制：

提取液：液体×1 瓶，4℃保存。

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，20μmol/L 无机磷标准液，4℃保存。

土壤无机磷提取：

取 10mL 离心管，加入精确称取的 100 目筛子过筛的风干土样约 0.01g，加入 1mL 提取液，震荡混匀，然后置于 40℃水浴浸提 1h，8000g，25℃，离心 10min，取上清液，待测。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，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，100 μL 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，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。

需在 40min 内完成比色。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

土壤无机磷含量计算公式：

a.使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

S-PHOS (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 $\mu\text{mol/L}$; V 总: 总上清液体积, 1 mL=0.001 L; W: 土壤样品质量, g。

b.使用 96 孔板测定的计算公式如下

$$\begin{aligned} \text{S-PHOS } (\mu\text{mol/g 干重}) &= [\text{C 标准液} \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白})] \times V \text{ 总} \div W \\ &= 0.02 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \end{aligned}$$

C 标准液: 20 $\mu\text{mol/L}$; V 总: 总上清液体积, 1 mL=0.001 L; W: 土壤样品质量, g。

注意事项:

1. 试剂三需临用前配制, 限当天使用。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。
2. 40min 内完成比色。