

土壤无机磷（soil inorganic phosphorus, S-PHOS）含量试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

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、台式离心机、可调式水浴锅，分析天平、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水和 100 目筛子。

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 20 mL 蒸馏水，充分溶解后加入 10 mL 试剂二，混匀。

标准品：液体×1 支，20 μmol/L 无机磷标准液，4℃ 保存。

土壤无机磷提取：

取 10 mL 离心管，加入精确称取的 100 目筛子过筛的风干土样约 0.1g，加入 10 mL 提取液，震荡混匀，然后置于 40℃ 水浴浸提 1 h，8000g，25℃，离心 10min，取上清液，待测。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 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 500μL 蒸馏水，500μL 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 50μL 标准液，450μL 蒸馏水，500μL 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 50μL 上清液，450μL 蒸馏水，500μL 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：

$$\begin{aligned} \text{S-PHOS (nmol/d/g 干重)} &= [\text{C 标准液} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div \text{W} \\ &= 200 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W} \end{aligned}$$

C 标准液：20 μ mol/L；V 总：总上清液体积，10 mL=0.01 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。