

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

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，**40 μg/ml**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，8000rpm，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，8000rpm，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 100 μL 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 10 μL 标准液，90 μL 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 标准管。
5. **测定管**：取 EP 管，依次加入 10 μL 上清液一或者上清液二，90 μL 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 测定管。

土壤磷含量计算：

1. 土壤无机磷含量 (μ g /g) = [C 标准液 × (A 测定 - A 空白) ÷ (A 标准 - A 空白)] × V 总 ÷ W

$$= 40 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W$$

C 标准液：40 μ g/ml； W：土壤样品质量，g； V 总：上清液一总体积，1 mL。

2. 土壤总磷含量 (μ g/g) = [C 标准液 × (A 测定 - A 空白) ÷ (A 标准 - A 空白)] × V 总 ÷ W

$$= 40 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W$$

C 标准液：40 μ g/ml； W：土壤样品质量，g； V 总：上清液二总体积，1mL。

3. 土壤有机磷 (μ g /g) = 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。