

土壤总酚试剂盒说明书

(货号: BP10081W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

土壤中的酚类物质主要由植物释放, 以及植物残体和凋落物分解产生。由于酚类物质的难降解性, 其在土壤中的积累会影响土壤的碳氮转化和温室气体排放, 进而会使土壤肥力衰退。另外, 酚类物质对土壤有机质矿化和养分循环也有着重要影响。

本试剂盒采用福林酚法测定土壤中酚类物质含量, 在碱性条件下, 酚类物质将钨钼酸还原, 产生蓝色化合物, 在 750nm 处有特征吸收峰, 通过检测在 750nm 处的吸光值, 进而计算土壤中酚类物质含量。

二、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

三、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 14mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	4°C避光保存	
标准品	粉体 1 支	4°C避光保存	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

称取约 0.5g 土壤样本, 加入 1mL 提取液, 室温振荡提取 30min。25°C×8000rpm, 离心 10min, 取上清待测。

2、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min, 调节波长至 750nm。

② 在 96 孔板中依次加入:

试剂组分 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	50	
蒸馏水		50
试剂一	125	125
试剂二	25	25

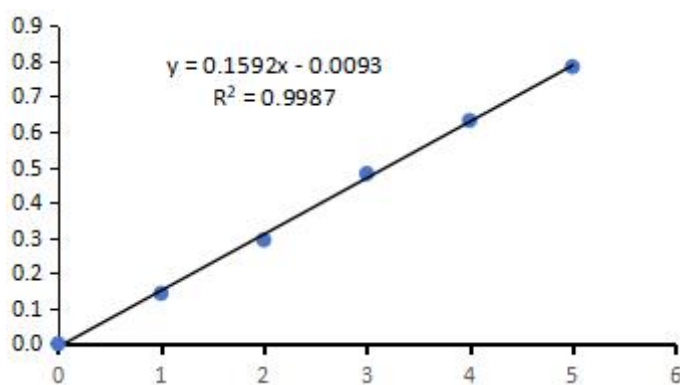
混匀, 25℃室温静置 30min, 全部液体转移至 96 孔板中, 测定 750nm 吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

【注】:1.吸光值大于 1, 上清液用蒸馏水适当稀释再测定, 计算公式里乘以稀释倍数 D。

2.若 ΔA 在零附近, 可增加土壤取样质量 W, 或加大样本上样量 V1 (如增至 100 μL , 则试剂一相应减少, 保持总体积不变), 则改变后 W 和 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

1、标准曲线: $y = 0.1592x - 0.0093$, x 是标准品质量(μg), y 是 ΔA 。



2、土壤总酚含量($\mu\text{g/g}$ 土壤) = $(\Delta A + 0.0093) \div 0.1592 \div (V1 \div V \times W) \times D$
 $= 125.6 \times (\Delta A + 0.0093) \times V \div W \times D$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---反应中样品体积, 0.05mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

W---土壤取样质量, g。

附: 标准曲线制作过程:

1 向标准品 EP 管里面加入 1mL 蒸馏水, 超声完全溶解, 标准品母液浓度为 10mg/mL。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品, 例如: 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 mg/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。

2 标品稀释参照表如下:

1. 吸取标准品母液 100 μL , 加入 900 μL 蒸馏水, 混匀得到 1mg/mL 的标品稀释液;						
2. 吸取 1mg/mL 的标品稀释液 100 μL , 加入 900 μL 蒸馏水, 混匀得到 0.1mg/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 mg/mL	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
标品稀释液 μL	0	40	80	120	160	200
水 μL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据测定管的加样表操作, 根据结果, 以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值, 过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	50	
蒸馏水		50

试剂一	125	125
试剂二	25	25
混匀，25℃室温静置 30min，全部液体转移至 96 孔板中，测定 750nm 吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{浓度管}}$ 。		