

土壤速效磷含量试剂盒说明书

(货号: BP10133W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

植物吸收的磷主要是 H_2PO_4^- 的形态, 因此土壤中速效磷含量是评价土壤对作物磷供应能力的一种手段, 对于施肥有着直接的指导意义。

本试剂盒采用钼锑抗混合显色剂还原土壤中的速效磷, 使黄色的钼锑抗还原为磷钼兰, 在 700nm 下吸光值的大小与土壤中速效磷的含量成正比。

二、试剂盒组成和配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	粉体 2 瓶	常温保存	每瓶: 1. 临用前转移全部粉末至盛有 450mL 蒸馏水的蓝盖瓶中; 2. 向原试剂瓶中加入 50mL 蒸馏水涮洗瓶子后全部转移至蓝盖瓶中, 重复操作一次。总体积为 0.55L; 3. 混匀溶解后 15 天内用完。
试剂一	粉体 1 瓶	常温保存	
试剂二	A:粉体 1 支 B:液体 8mL ×1 瓶 C:粉体×4 瓶	常温保存	1. 临用前向 A 中加 1.3mL 蒸馏水溶解后, 全部加入 B 中, 再加 3.84mL 蒸馏水, 混匀得到 AB 液 (常温可保存 15 天); 2. 每支 C 中加入 3mLAB 液混合, 得到试剂二 (一天内用完)。
		常温避光保存	
		常温避光保存	
标准品	液体 1 支	常温保存	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。

【注】: 全程操作需无磷环境; 试剂配置最好用新的枪头和玻璃移液器等, 也可以用一次性塑料器皿, 免磷污染。

三、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)。

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:

称取通过 40 目筛的风干土样 0.5g (精确称量至 0.001g) 于 10mL 有盖离心管中, 加入一勺 (约 0.05g) 的试剂一, 加入 10mL 的提取液, 盖紧, 水平放置在震荡器上室温 200rpm 往复震荡培养 30min, 用无磷滤纸过滤, 滤液收集至新的 10mL 离心管中, 立即进行测定。

2、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 700nm。

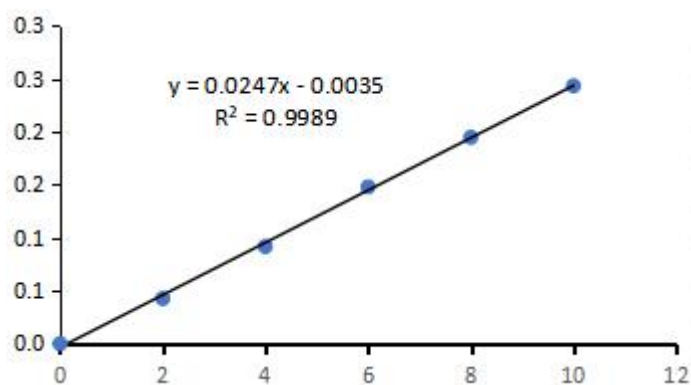
② 在 EP 中依次加入下列试剂:

试剂组分 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	200	
提取液		200

试剂二 (缓慢加入, 防止溢出)	100	100
若产生大量气泡, 停止冒泡后, 盖上管盖颠倒混匀后小心打开盖子放气, 重复操作 2-3 次, 将气泡全部排出。若无明显气泡产生, 则正常混匀后进行下一步操作。		
蒸馏水	700	700
混匀, 室温静置 30min 后, 取出 200 μ L 至 96 孔板中, 于 700nm 下读取各管吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

五、结果计算:

1、标准曲线方程: $y = 0.0247x - 0.0035$, x 是标准品摩尔质量 ($\mu\text{g/mL}$), y 是 ΔA 。



2、按样本质量计算:

$$\begin{aligned} \text{土壤速效磷含量}(\mu\text{g/g}) &= [(\Delta A + 0.0035) \div 0.0247 \times V] \div W \\ &= 404.9 \times (\Delta A + 0.0035) \div W \end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 10mL;

W---样本质量, 0.5g。

附: 标准曲线制作过程:

1 标准品母液浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品, 例如: 0, 2, 4, 6, 8, 10, $\mu\text{g/mL}$ 。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:

吸取标准品母液 200 μ L, 加入 800 μ L 蒸馏水, 混匀得到 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标品稀释液待用。						
标品浓度 $\mu\text{g/mL}$	0	2	4	6	8	10
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	200	
蒸馏水		200
提取液	200	200

试剂二	100	100
蒸馏水	500	500
混匀，室温静置 30min 后，取出 200 μ L 至 96 孔板中，于 700nm 下读取各管吸光值 A， $\Delta A=A$ 测定-0 浓度管。		