北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www. bjoka- vip. com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

土壤总磷/有机磷/无机磷含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：D17098

规格：50 T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 50mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 11mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三	粉剂 ×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂四	粉剂 ×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品	液体 1mL×1 支	2-8℃ 保存

溶液的配制：

1、 试剂一 ：临用前用蒸馏水稀释 10 倍后再用；

2、 试剂三：临用前加入 10 mL 蒸馏水溶解， 2-8℃ 可以保存 4 周；

3、 试剂四：临用前加入 10mL 蒸馏水溶解， 2-8℃ 可以保存 4 周；

4、 定磷试剂的配制：临用前按试剂二：试剂三：试剂四 =1:1:1 的体积比配制。配好的定磷试剂应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，限当天使用。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。（注意：配制时最好使用新的烧杯、玻璃棒和玻璃移液器，或者一次性塑料器皿，以避免磷污染。）

5、 标准品： 10 μmol/mL 磷标准液。

产品说明：

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。

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。

技术指标：

最低检出限： 0.18 μmol/mL

线性范围： 0.065-2.5 μmol/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

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、 550℃ 高温电炉、 1 mL 玻璃比色皿、研钵、蒸馏水、 30-50 目筛子、 100 目筛子。

操作步骤：

一、样本处理：（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 无机磷：称取通过 30-50 目筛子的风干土样 0.1g，转移到 10mL 离心管，加入 10mL 试剂一，震荡混匀，然后置于 45℃ 水浴 1h,8000rpm,25℃ 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 0.1g，转移到 10mL 离心管，加入 10mL 试剂一，震荡混匀，然后置于 45℃ 水浴 1h,8000rpm,25℃，离心 10min，取上清液二，用于总磷含量测定。

二、测定步骤

1、分光光度计预热 30min，调节波长到 660nm，蒸馏水调零。

2、1μmol/mL 标准溶液的配制：取 100μL10μmol/mL 磷标准液，加入 900μL 蒸馏水，充分混匀，配制成 1μmol/mL 标准液使用，现用现配。

3、打开水浴锅，调节温度到 40℃。

4、空白管：取 EP 管，依次加入 500μL 蒸馏水，500μL 定磷试剂，混匀后置于 40°℃ 水浴保温 10min，室温冷却 10min 后于 660nm 测定吸光度，记为 A 空白管。空白管只需做 1-2 次。

5、标准管：取 EP 管，依次加入 50μL 标准液，450μL 蒸馏水，500μL 定磷试剂，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。标准管只需做 1-2 次。

6、测定管：取 EP 管，依次加入 50μL 上清液一或者上清液二，450μL 蒸馏水，500μL 定磷试剂，混匀后置于 40℃ 水浴保温 10 min，室温冷却 10 min 后于 660 nm 测定吸光度，记为 A 测定管。

三、土壤磷含量计算

(1) 土壤无机磷含量（μg/g 土样）=[C 标准液×(A 测定管-A 空白管)÷(A 标准管-A 空白管)]×V 总×30.97÷W

=309.7×(A 测定管-A 空白管)÷(A 标准管-A 空白管)÷W

C 标准液：1μmol/mL;30.97：磷的相对原子质量；W：土壤样本质量，g;V 总：上清液一总体积，10mL。

(2) 土壤总磷含量（μg/g 土样）=[C 标准液×(A 测定管-A 空白管)÷(A 标准管-A 空白管)]×V 总×30.97÷W

=309.7×(A 测定管-A 空白管)÷(A 标准管-A 空白管)÷W

C 标准液：1μmol/mL;30.97：磷的相对原子质量；W：土壤样本质量，g;V 总：上清液二总体积，10mL。

(3) 土壤有机磷（μg/g 土样）= 土壤总磷 - 土壤无机磷

注意事项：

1、如果吸光值大于 1.0 时，样本需用蒸馏水做相应稀释。

2、空白管和标准管只需测定 1-2 次。

3、需在 40min 内完成比色。

相关发表文献：

[1]LiY,Chi J,Ao J,Gao X,Liu X,Sun Y,Zhu W.Effects of Different Continuous Cropping Years on Bacterial Community and Diversity of Cucumber Rhizosphere Soil in Solar-Greenhouse.Curr Microbiol.2021 Jun;78(6):2380-2390.doi:10.1007/s00284-021-02485-x.Epub 2021 Apr 19.PMID:33874692.