

## 土壤总磷/有机磷/无机磷含量测定试剂盒说明书

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：**

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、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，1mL 玻璃比色皿、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 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 0.1g，转移到 10 mL 离心管，加入 10mL 试剂一，震荡混匀，然后置于 45℃水浴 1h，8000g，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 10 mL 离心管，加入 10mL 试剂一，震荡混匀，然后置于 45℃水浴 1h，8000g，25℃，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, 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 上清液一或者上清液二, 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。

**注意:** 空白管和标准管只需测定一次。

**土壤磷含量计算:**

1. 土壤无机磷含量( $\mu\text{mol/g}$ )= $[C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})] \times V \text{ 总} \div W = 0.2 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W$

C 标准液: 20  $\mu\text{mol/L}$ ; W: 土壤样品质量, g; V 总: 上清液一总体积, 10 mL=0.01 L。

2. 土壤总磷含量( $\mu\text{mol/g}$  干重)=[C 标准液 $\times$ (A 测定管-A 空白管) $\div$ (A 标准管-A 空白管)] $\times$ V 总 $\div$ W=0.2 $\times$ (A 测定管-A 空白管) $\div$ (A 标准管-A 空白管) $\div$ W

C 标准液: 20  $\mu\text{mol/L}$ ; V 标准液: 50 $\mu\text{L}$ =0.05 mL; W: 土壤样品质量, g;

V 总: 上清液二总体积, 10 mL=0.01 L。

3. 土壤有机磷 ( $\mu\text{mol/g}$ ) = 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。