

## 土壤全硼试剂盒说明书

**微量法 100T/96S**

**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：**

硼是植物生长发育必需的七种微量元素之一，土壤中硼素的含量高低直接影响着植物的生长状况。

**测定原理：**

硼与甲亚胺在弱酸条件下形成棕黄色配合物，在 420nm 有特征吸收峰。

**自备实验用品及仪器：**

天平、常温离心机、可见分光光度计/酶标仪、马弗炉、微量石英比色皿/96 孔板。

**试剂组成和配制：**

提取剂：粉剂×1 瓶，4℃保存。

提取液：液体 100mL×4 瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1 瓶，4℃保存。临用前加 8mL 水溶解，加 0.125mL 乙酸。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃避光保存。临用前加 4mL 蒸馏水溶解。

**样本处理：**

新鲜土样风干，过 100 目筛，按照土壤质量(g)：提取剂质量(g)为 1: 4 的比例（建议称取约 0.1g 土样，加入 0.4g 提取剂）缓慢加入提取剂于坩埚中，边加边搅拌均匀，然后在马弗炉中 550℃熔融 10min，然后在 920℃熔融 30min，趁热取出坩埚，将熔融物转入烧杯，边搅拌边加 4mL 提取液，必要时加盖，防止溶液溅出，溶解 30min 后，5000g，25℃离心 10min，取上清液待测。

**测定操作表:**

	空白管	测定管
样本 (μL)		40
试剂一 (μL)	80	80
试剂二 (μL)	40	40
H <sub>2</sub> O (μL)	80	40
充分混匀, 25°C黑暗中静置 1h		
于微量石英比色皿/96 孔板, 蒸馏水调零, 测定 420nm 处吸光值 A, 分别记为 A 空白管和 A 测定管, △ A=A 测定管-A 空白管		

**计算公式:**
**a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下**

标准曲线:  $y = 0.3897x - 0.2359$ ,  $R^2 = 0.9995$

$$\begin{aligned} \text{全硼含量 (mg/kg)} &= (\Delta A + 0.2359) \div 0.3897 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 51.32 \times (\Delta A + 0.2359) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.2mL; V 样: 反应体系中加入样本体积, 0.04mL; V 样总: 加入提取液体积, 4mL, W: 样本质量, g

**b. 用 96 孔板测定的计算公式如下**

标准曲线:  $y = 0.1949x - 0.2359$ ,  $R^2 = 0.9995$

$$\begin{aligned} \text{全硼含量 (mg/kg)} &= (\Delta A + 0.2359) \div 0.1949 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 102.64 \times (\Delta A + 0.2359) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.2mL; V 样: 反应体系中加入样本体积, 0.04mL; V 样总: 加入提取液体积, 4mL, W: 样本质量, g

**注意事项:**

1. 配制好的试剂二 4°C 保存不可超过 7 天。
2. 显色时严格控制温度并且避光, 以免显色剂见光分解。