

水土中总磷酸盐含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1957

产品规格：100T/96S

产品简介：

总磷酸盐包含正磷酸盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、多聚磷酸盐等各种磷酸盐的形式，反应了水土中的磷酸盐水平，是一个水质和土壤质量评价的重要指标。

在酸性溶液中，在分解剂和高温条件下，将无机磷酸盐和有机磷酸盐水解成正磷酸盐，正磷酸盐可与钼酸铵反应成磷钼酸，在还原剂存在时被还原为磷钼蓝，在660nm处有特征吸收峰。

技术指标：

最低检出限：0.0075 μ mol/mL

线性范围：0.0098-5 μ mol/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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体10mL×1瓶（自备）	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂五	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂六	液体5mL×1瓶	室温
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：浓硫酸10mL自备。
2. 试剂二：每瓶临用前加入15mL蒸馏水溶解备用，溶解后2-8℃保存一周。
3. 试剂四：临用前加入5mL蒸馏水，溶解后2-8℃保存两周。
4. 试剂五：临用前加入5mL蒸馏水，溶解后2-8℃保存两周。
5. 标准品：临用前加入1.4mL下述稀释液溶解粉剂，配成20 μ mol/mL的磷标准液，2-8℃保存两周。
6. 稀释液的配制：按蒸馏水体积（mL）：试剂一体积（mL）：试剂二体积（mL）=10:1:2的比例混合即可，现用现配。
7. 定磷试剂的配制：按H₂O：试剂四：试剂五：试剂六（V:V:V:V）=2:1:1:1的比例配制，配好的工作液应为浅黄色。若变色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，工作液应现配现用。

注意：配试剂最好用新的烧杯、玻璃棒和玻璃移液器，也可以用一次性塑料器皿，避免磷污染。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、天平、台式离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、30-50目筛、漩涡震荡仪、研钵、EP管、蒸馏水、浓硫酸。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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. 水样：按照水样体积（mL）：试剂一体积（mL）：试剂二体积（mL）为10:1:2的比例（建议取1mL水样，加入100 μL试剂一和200 μL试剂二），用封口膜封口。95℃水浴30min，冷却后待测。
2. 土样：（1）新鲜土样风干，过30-50目筛；（2）按照风干土壤质量（g）：蒸馏水体积（mL）：试剂一体积（mL）：试剂二体积（mL）=1:10:1:2（建议称取约0.1g土样，加入1mL蒸馏水，再加入100 μL试剂一和200 μL试剂二），用封口膜封口。95℃水浴振荡30min，10000g，25℃离心10min，取上清液待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至660nm，蒸馏水调零。
2. 将20 μmol/mL标准液用稀释液稀释为2、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078125、0.039 μmol/mL的标准溶液备用。
3. 标准溶液稀释表：

序号	稀释前浓度（μmol/mL）	标准液体积（μL）	稀释液体积（μL）	稀释后浓度（μmol/mL）
1	20	20	180	2
2	20	25	375	1.25
3	1.25	200	200	0.625
4	0.625	200	200	0.3125
5	0.3125	200	200	0.15625
6	0.15625	200	200	0.078125
7	0.078125	200	200	0.039

4. 操作表（在1.5mL离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	标准管	空白管
样本	30	-	-
标准溶液	-	30	-
稀释液	-	-	30
试剂三	45	45	45
定磷试剂	150	150	150
蒸馏水	75	75	75

充分混匀，40℃静置10min，反应完成吸取200μL于微量玻璃比色皿/96孔板中，测定660nm处吸光值A，分别记为A测定管、A标准管和A空白管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ （空白管、标准管只需测1-2次）。

三、总磷酸盐含量计算

1. 标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为x轴，其对应的 ΔA 标准为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 带入方程得到x（μmol/mL）。

2. 总磷酸盐含量的计算：

土样总磷酸盐含量（μmol/g土样）= $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) = 1.3x \div W$

水样总磷酸盐含量（μmol/mL水样）= $x \times V_{\text{样总}} \div V_{\text{水样}} = 1.3x$

V样：加入样本体积，0.03mL；V样总：样本处理加到土样中的液体总体积，1.3mL；W：样本质量，g；V水样：水样体积，1mL。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

注意事项:

1. 定磷试剂应现配现用, 正常颜色为浅黄色, 如有变色或变蓝则均为失效。
2. 加入试剂三后可能会产生絮状沉淀, 其对后续实验无影响, 加入定磷试剂后即自行消除。
3. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

实验实例:

1. 取 0.1g 三叶草土, 加入 1mL 蒸馏水, 再加入 100 μ L 试剂一和 200 μ L 试剂二, 离心取上清稀释 2 倍, 之后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 = A 测定管 - A 空白管 = 0.692 - 0.045 = 0.647, 带入标准曲线 $y = 0.7001x + 0.0078$, 得 $x = 0.913$, 计算含量得:
土样总磷酸盐含量 (μ mol/g 土样) = $1.3x \div W \times 2$ (稀释倍数) = $1.3 \times 0.913 \div 0.1 \times 2 = 23.74 \mu$ mol/g 土样。
2. 取 0.1g 林土, 加入 1mL 蒸馏水, 再加入 100 μ L 试剂一和 200 μ L 试剂二, 离心取上清稀释 2 倍, 之后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 = A 测定管 - A 空白管 = 0.685 - 0.045 = 0.640, 带入标准曲线 $y = 0.7001x + 0.0078$, 得 $x = 0.903$, 计算含量得:
土样总磷酸盐含量 (μ mol/g 土样) = $1.3x \div W \times 2$ (稀释倍数) = $1.3 \times 0.903 \div 0.1 \times 2 = 23.49 \mu$ mol/g 土样。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com