

植物全磷检测试剂盒（微量法）

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：

磷的存在形态包括无机磷与有机磷。无机磷主要指磷酸根，参与生物体内多种代谢，包括能量代谢、核酸代谢、蛋白质磷酸化和脱磷酸化等。通过测定总磷与无机磷含量即可了解作物对磷的利用率，进而为合理施肥提供依据。

测定原理：

植株样品用硫酸-过氧化氢消化，使各种形态磷转变成正磷酸盐，正磷酸盐与钼锑抗显色剂反应，生产磷钼蓝，蓝色溶液的吸光度与含磷量呈正比例关系，用酶标仪测定。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 50m

试剂二：液体 5ml

试剂三：粉剂×1 支，4℃避光保存。临用前加 0.2mL 蒸馏水溶解。

试剂四：液体 0.4mL×1 支，4℃保存。

工作液：临用前将试剂三和试剂四混合，加 19.4mL 蒸馏水混匀。（提供 20mL 棕色空瓶）

样本消化：

1. 将植物样本 80℃烘干至恒重后粉碎，过 40 目筛，称取约 0.3g，加入消化管中，同时取空消化管两支，用移液管分别往每管中加入 10mL 浓硫酸，轻轻晃动消化管。
2. 将 20 支消化管全部置于石墨消解仪上，盖好盖子，打开废气回收系统以及石墨消解仪，温度设置为：曲线加热 100℃，10min；280℃，10min；400℃，40min。
3. 将消化管冷却至室温，切勿在样品冷却之前开盖。每支消化管中缓慢加入 1mL 试剂二，摇匀，重新放置在石墨消解仪上，温度设置为：曲线加热 200℃，10min；320℃，10min；400℃，30min。
4. 取出消化管冷却至室温，切勿在样品冷却之前开盖。每支消化管中缓慢加入 0.5mL 试剂二，摇匀，重新放置在石墨消解仪上，温度设置为：曲线加热 200℃，10min；320℃，10min；400℃，30min。若样本未呈现澄清状态，应重复步骤 4 至澄清，即消解完全。
5. 关闭石墨消解仪，待样品冷却后关掉废气回收系统。
6. 取 2mLEP 管，每个加 900uL 蒸馏水，再加 100uL 消解液混匀后，再加试剂一 500uL，混匀后待测。

测定步骤表:

	空白管	测定管
样本 (μL)		20
提取液 (μL)	20	
工作液 (μL)	180	180
充分混匀, 25°C 静置 30min		
于微量石英比色皿/96 孔板, 蒸馏水调零, 测定 700nm 处吸光值 A, 分别记为 A 空白管和 A 测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

注意: 空白管只需测定一次。

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: $y = 2.1476x - 0.0011$, $R^2 = 0.9983$ (x 为标准磷浓度, $\mu\text{mol/mL}$; y 为吸光值 A)

$$\begin{aligned} \text{全磷含量 (g/kg)} &= (\Delta A + 0.0011) \div 2.1476 \times V_{\text{总}} \div W \times 10^{-3} \times 31 \\ &= 1.443 \times (\Delta A + 0.0011) \div W \end{aligned}$$

V 总: 加入提取液体积, 100mL,

W: 样本质量, g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 1.0738x - 0.0011$, $R^2 = 0.9983$; (x 为标准磷浓度, $\mu\text{mol/mL}$; y 为吸光值 A)

$$\begin{aligned} \text{全磷含量 (g/kg)} &= (\Delta A + 0.0011) \div 1.0738 \times V_{\text{总}} \div W \times 10^{-3} \times 31 \\ &= 2.887 \times (\Delta A + 0.0011) \div W \end{aligned}$$

注意事项:

1. 配好的试剂 3 天内使用完。
2. 最低检出限为 11mg/Kg。