

水土中总磷酸盐试剂盒说明书

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

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。

测定原理

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 710nm 处有特征吸收峰。

需自备的仪器和用品

天平，震荡仪、常温离心机、酶标仪、96 孔板、蒸馏水。

试剂组成和配制

试剂一：液体 20mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 40mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 4mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂四：粉剂×1 瓶，4℃ 保存。临用前加 4mL 蒸馏水充分溶解，然后将试剂五全部加入试剂四中充分混匀。

试剂五：液体×1 支，4℃ 保存。

样品处理

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 100μL 试剂一和 200μL 试剂二）95℃ 沸水浴 30min，冷却后待测。
2. 土样：按照土壤质量（g）：蒸馏水体积（mL）：试剂一体积（V）：试剂二体积（V）=1:10:1:2（建议称取约 0.1g 土样，加入 1mL 蒸馏水，再加入 100μL 试剂一和 200μL 试剂二），95℃ 沸水浴振荡 30min，10000g，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
试剂三（μL）	40	40
试剂四（μL）	40	40
蒸馏水（μL）	120	80
充分混匀，25℃ 静置 10min，于 96 孔板测定 710 处吸光值 A，分别记为 A 空白管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

计算公式

标准曲线： $y = 0.0237x + 0.0016$ ， $R^2 = 0.9989$ ；x 为 PO_4 浓度 μg/mL，y 为吸光值 ΔA 。

1. 水样：

$$\begin{aligned} \text{总磷酸盐含量} (\mu\text{g/mL}) &= (\Delta A - 0.0016) \div 0.0237 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}}) \\ &= 54.8 \times (\Delta A - 0.0016) \end{aligned}$$

2. 土样：

$$\text{总磷酸盐含量} (\mu\text{g/g}) = (\Delta A + 0.0063) \div 0.0489 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} + V_{\text{样总}})$$

$$=54.8 \times (\Delta A + 0.0063) \div W$$

V 样：加入样本体积；0.04mL；V 样总：样本总体积，1.3mL；W，土样质量，g。

注意事项

1. 配制的试剂四一周内使用完。
2. 检出限为 65 $\mu\text{g/mL}$ 或 65 $\mu\text{g/g}$ 。