

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营养元素之一，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 ₂ O (μL)	80	40
充分混匀，25℃ 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， $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}$		

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

a. 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℃ 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。