

## 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  $\text{PO}_4$  浓度  $\mu\text{g/mL}$ ,  $y$  为吸光值  $\Delta A$ 。

1. 水样:

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

2. 土样:

$$\begin{aligned}\text{总磷酸盐含量 } (\mu\text{g/g}) &= (\Delta A + 0.0063) \div 0.0489 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 54.8 \times (\Delta A + 0.0063) \div W\end{aligned}$$

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积; 0.04mL;  $V_{\text{样总}}$ : 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  $65 \mu\text{g/g}$ 。