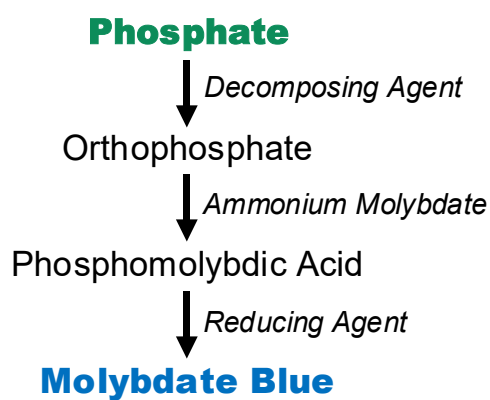




水土中总磷酸盐含量检测试剂盒

Water / Soil Sample Total Phosphate Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



水土中总磷酸盐含量检测试剂盒

Water / Soil Sample Total Phosphate Content Assay Kit

一、产品描述

总磷酸盐包含正磷酸盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、多聚磷酸盐等各种形式的磷酸盐，其含量能够反映水土中磷酸盐的水平，可作为水质和土壤质量评价的重要指标。

无机磷酸盐和有机磷酸盐在高温、酸性条件和分解剂共同作用下水解为正磷酸盐，正磷酸盐能够与钼酸铵反应生成磷钼酸，进一步在还原剂作用下生成磷钼蓝，产物在 660 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测总磷酸盐的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体×1 瓶 (自备试剂)	RT 保存	浓硫酸 (H_2SO_4 , MW=98.08, CAS:7664-93-9)
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶加入 22 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C可保存 1 周)
试剂三	-	4°C保存	按蒸馏水：试剂一：试剂二=10:1:2 的体积比配制 (根据使用量现用现配)
试剂四	液体 6 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂五	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶加入 4 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C可保存 1 周)
试剂六	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶加入 4 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C可保存 1 周)
试剂七	液体 4 mL×1 瓶	RT 保存	-
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	使用前加入 1 mL 试剂三充分溶解 (即为 20 $\mu\text{mol/mL}$ 磷标准液)
标准稀释液的制备 (现用现配)：使用前将 20 $\mu\text{mol/mL}$ 磷标准液使用试剂三稀释至 3.0、2.0、1.2、0.4、0.2、0.1 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准稀释液，配制方法详见注意事项④。			

自备试剂：浓硫酸 (H_2SO_4 , MW=98.08, CAS:7664-93-9)

注：配制试剂三时建议使用新的烧杯、玻璃棒和玻璃移液管，或用一次性塑料器皿，避免磷污染。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、可调式移液器、烘箱、30-50 目筛、台式离心机、恒温水浴/培养箱、2 mL 密封性良好螺纹盖离心管（推荐冻存管）、浓硫酸和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

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 1 mL 水样，加入 100 μ L 试剂一和 200 μ L 试剂二），95°C 处理 30 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，常温 10000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本。

②土样：新鲜土样自然风干或 37°C 烘干后过 30-50 目筛，按照风干土样质量（g）：蒸馏水体积（mL）：试剂一体积（mL）：试剂二体积（mL）=1:10:1:2 的比例（建议称取 0.1 g 土样，加入 1 mL 蒸馏水，再加入 100 μ L 试剂一和 200 μ L 试剂二），95°C 处理 30 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，常温 10000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本。

注：建议使用螺纹盖 2 mL 离心管（推荐冻存管）进行样品处理，注意密封以防止水分散失。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 660 nm。

②定磷剂的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂五：试剂六：试剂七：蒸馏水=1:1:1:2 的体积比配制。定磷剂正常应为浅黄色，若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染。

注：配制定磷剂时建议使用新的烧杯、玻璃棒和玻璃移液管，或用一次性塑料器皿，避免磷污染。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
待测样本	30	-	-
标准稀释液	-	30	-
试剂三	-	-	30
试剂四	45	45	45
定磷剂	150	150	150
蒸馏水	75	75	75
充分混匀，40°C 反应 10 min，冷却至室温			

吸光值测定：吸取 200 μ L 反应液至 96 孔板中，测定 660 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白，计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 3.0、2.0、1.2、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 为横坐标 (x)，以其对应的ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将ΔA 测定代入公式中得到 x (μmol/mL)。

3.总磷酸盐含量计算

①水样总磷酸盐含量计算

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

②土样总磷酸盐含量计算

$$\text{总磷酸盐含量 (}\mu\text{mol/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W} = \frac{1.3 \times x}{W}$$

注释：V 样总：待测样本总体积，1.3 mL；V 水样：水样体积，1 mL；W：土壤样本质量，g。

四、注意事项

- ①试剂二、试剂五和试剂六配制后有效期短，为便于试验安排，各附赠一瓶作为备用，每瓶均可完成至少 100 个样本的检测；
- ②试剂四和试剂七有强腐蚀性和刺激性，操作时请做好防护措施，建议在通风橱中进行实验操作；
- ③加入试剂四后可能会产生絮状沉淀，加入定磷剂后沉淀即可消除，不影响后续试验；
- ④**标准稀释液的制备（现用现配）：**使用前将 20 μmol/mL 磷标准液使用**试剂三**稀释至 3.0、2.0、1.2、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 即为标准稀释液。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μmol/mL)	20	5.0	3.0	2.0	1.2	0.4	0.2
标准液体积 (μL)	100	300	300	300	150	200	200
试剂三体积 (μL)	300	200	150	200	300	200	200
稀释后浓度 (μmol/mL)	5.0	3.0	2.0	1.2	0.4	0.2	0.1

- ⑤若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用**试剂三**适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度的样本后再进行测定，计算时相应修改；
- ⑥为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

