

CheKine™ 中性、碱性土壤速效磷含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB4013

规格: 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本：中性、碱性土壤样本
	保质期：4℃，避光保存 12 个月

01 背景与原理

速效磷是土壤中可被植物吸收的磷组分，包括全部水溶性磷、部分吸附态磷及有机态磷，土壤中速效磷是限制植物生长主要因子之一。

本试剂盒检测原理是用弱碱法提取碱溶性磷和吸附态磷，钼蓝与磷酸根生成的物质在 660 nm 处有特征吸收峰，通过测定 660 nm 处吸光度计算磷含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格	储存要求
	96 T	
Extraction Buffer	70 mL×2	4℃
Reagent I	6.6 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Reagent III	Powder×3 vials	4℃，避光保存
Standard	1 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 660 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	试剂、检测体系配制用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温摇床、台式离心机、30-50 目筛、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本公司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；Reagent I 有毒，建议在通风橱进行实验
Working Reagent II	临用前配制，加入 2 mL 去离子水充分溶解后使用	未用完的试剂 4℃避光保存 1 周；Working Reagent II 有刺激性，建议在通风橱进行实验
Working Reagent III	临用前配制，根据用量每支加入 1 mL 去离子水充分溶解后使用	未用完的试剂 4℃避光保存 1 周
Standard	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存

05-1-2 标准品配制

取 1 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品，按下表所示，进行下一步稀释。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	Standard 体积	Extraction Buffer 体积 (μL)	浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
1	100 μL 1 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.5
2	100 μL of 0.5 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.25
3	100 μL of 0.25 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.125
4	100 μL of 0.125 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.063
5	100 μL of 0.063 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.031
6	100 μL of 0.031 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.016
7	100 μL of 0.016 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.008
8	100 μL of 0.008 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.004
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把新鲜土壤样本保存在 -80°C ，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从 -80°C 拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- 土壤样本：新鲜土样风干，过 30-50 目筛，称取约 0.05 g 土样，加入 1 mL Extraction Buffer， 37°C 振荡提取 1 h， 25°C ，10000 g 离心 10 min，取上清液待测。

05-3 实验步骤

注意：反应过程会产生气泡，将气泡消除后再进行测定。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 660 nm。
2. Working Reagent（可测 50 个样）：临用前配制；取 EP 管一支，加入 660 μL Reagent I，再加入 100 μL Working Reagent II，充分混匀后，再加入 240 μL Working Reagent III，充分混匀待用；根据样品数量，可按比例缩小各试剂体积。Working Reagent 应现配现用，须尽快使用。正常颜色为浅黄色，如有变色或变蓝则均为失效。
3. 检测体系配制：空白孔和标准曲线只需测定 1 次。在 96 孔板中按照如下方式操作：

试剂	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)
样本上清	0	0	40
Extraction Buffer	40	0	0
Standard	0	40	0
Working Reagent	20	20	20
去离子水	140	140	140

4. 吸光度检测：混匀后 25°C 静置 30 min，测定 660 nm 处吸光值，分别记录为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 ($\mu\text{mol/mL}$)。

3. 样本速效磷含量计算

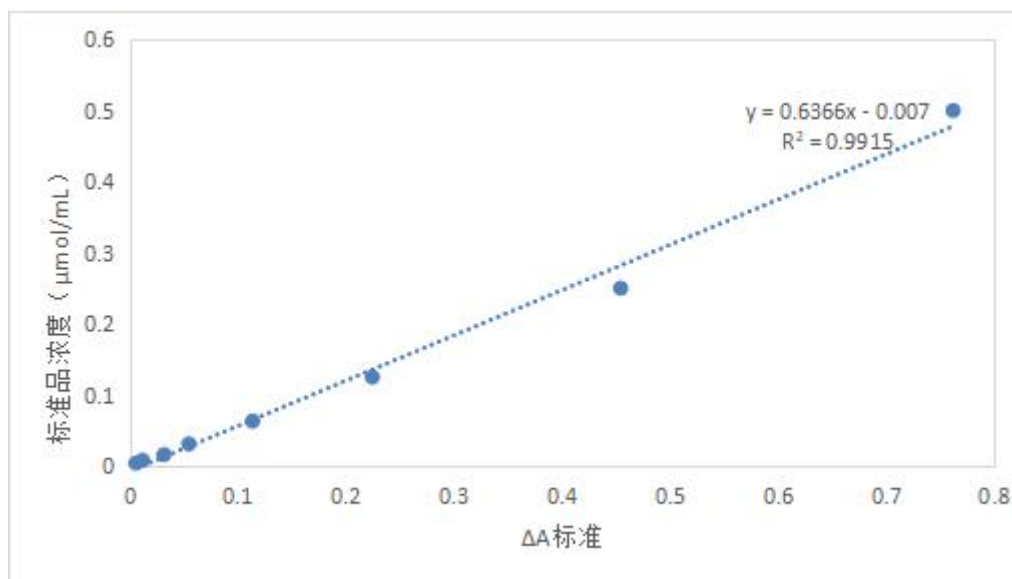
● 按样本质量计算

速效磷含量 ($\mu\text{mol/g}$) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \times n = 20 \times y \times n$

$V_{\text{样}}$ ：加入的样本体积，0.04 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；W：样本质量，0.05 g；n：样本稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线： $y = 0.6366x - 0.007$ ， $R^2 = 0.9915$



示例-1: 取 0.05 g 新鲜土壤，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.159 - 0.041 = 0.118$ ，代入标准曲线，计算 $y = 0.068$ 。按样本质量计算得：速效磷含量 ($\mu\text{mol/g}$) = $20 \times y \times n = 1.36 \mu\text{mol/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 0.5 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 值，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4011	CheKine™ 土壤无机磷（S-PHOS）含量检测试剂盒(微量法)
KTB3050	CheKine™ 水土中亚硝酸盐含量检测试剂盒

CheKine™ 中性、碱性土壤速效磷含量检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB4013)

样本处理



土壤样本

新鲜土样风干，过30-50目筛，称取约0.05 g土样
加入1 mL Extraction Buffer，37℃振荡提取1 h



10000 g，25℃离心10 min，取上清



体系配置

Working Reagent（可测50个样）：临用前配制；取EP管一支，加入
660 μ L Reagent I
100 μ L Working Reagent II
充分混匀
240 μ L Working Reagent III，充分混匀待用；根据样品数量，可按比例缩小各试剂体积。Working Reagent应现配现用，须尽快使用。正常颜色为浅黄色，如有变色或变蓝则均为失效

标准品配制



测定孔

样本上清 40 μ L
Working Reagent 20 μ L
去离子水 140 μ L



空白孔

Extraction Buffer 40 μ L
Working Reagent 20 μ L
去离子水 140 μ L

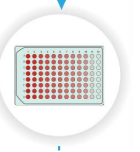


标准孔

Standard 40 μ L
Working Reagent 20 μ L
去离子水 140 μ L

混匀后25℃静置30 min

数据检测



测定660 nm吸光度结果计算