

土壤速效钾含量检测试剂盒说明书

微量法

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 70mL×2 瓶	常温保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶（自备）	常温保存
试剂二	液体 3mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 A	液体 10.2mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三 B	粉剂×2 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 3mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1mL×1 支	2-8°C保存

溶液的配制：

- 1、提取液：若有晶体析出，37°C水浴溶解即可。
- 2、试剂一：自备，甲醛。
- 3、工作液：临用前在 1 瓶试剂三 B 中加入 2.805mL 试剂三 A，充分溶解，现配现用，用不完的试剂 2-8°C保存一周（每瓶配好的工作液可做 37 管样本测定管试验）。
- 4、标准液：20 μmol/mL 钾标准液。

产品说明：

速效钾是土壤中易被植物吸收利用的钾素，是表征土壤钾素供应状况的重要指标之一。及时测定和了解土壤速效钾的含量及其变化，对耕地地力评价及对指导钾肥的施用有着重要作用。

钾离子与四苯硼钠作用，形成不溶于水的白色四苯硼钾沉淀，产生的浊度在一定范围内与钾离子浓度成正比，通过检测其在 420nm 处的浊度来测定土壤速效钾的含量。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、振荡器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、30-50 目筛、甲醛（不允许快递）、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样风干，过 30-50 目筛。按照土壤质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.2g 土样，加入 1mL 提取液），振荡提取 1h，10000rpm，25°C离心 10min（若离心后上清中仍有杂质，建议将上清再次离心，至澄清），取上清液待测。

二、测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 420nm，分光光度计蒸馏水调零。

2、临用前将 20 μmol/mL 钾标准液用**提取液**稀释至 1.2、1、0.8、0.6、0.4、0.3、0.2 μmol/mL 的标准液待测。

3、标准液稀释可参考下表：

序号	稀释前浓度 (μmol/mL)	标准液体积 (μL)	提取液体积 (μL)	稀释后浓度 (μmol/mL)
1	20	100	900	2
2	2	120	80	1.2
3	2	500	500	1
4	1	160	40	0.8
5	1	120	80	0.6
6	1	80	120	0.4
7	1	60	140	0.3
8	1	40	160	0.2

备注：实验中每个标准管需要 50μL 标准液。

4、在 EP 管或 96 孔板中进行以下操作（试剂一为有刺激性气味的有毒物质，建议以下试验在**通风橱**中操作）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样本 (μL)	50	50	-	-
提取液 (μL)	-	-	50	-
标准液 (μL)	-	-	-	50
试剂一 (μL)	25	25	25	25
涡旋混匀，室温静置 5min。				
试剂二 (μL)	25	25	25	25
工作液 (μL)	75	-	-	75
试剂三 A (μL)	-	75	75	-
试剂四 (μL)	25	25	25	25
涡旋混匀，室温静置 5min，于微量玻璃比色皿或 96 孔板中测定 420nm 处吸光值，分别记为 A 测定、A 对照、A 空白、A 标准。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管和标准曲线只需做 1-2 次。				

三、速效钾含量计算

1、标准曲线的绘制：根据标准管的浓度 (x, μmol/mL) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (y, $\Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度 (x, μmol/mL)。

2、速效钾含量计算：

$$\text{速效钾含量 (mg/kg)} = x \times 10^{-3} \times V_{\text{样总}} \div W \times 39 = 0.039x \div W$$

10^{-3} ：单位换算系数，1μmol=10⁻³ mmol；V 样总：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，kg；39：钾离子的相对分子质量。

注意事项：

- 1、提取液刚从低温 (4°C) 条件取出会有晶体析出，震荡使其溶解即可。
- 2、甲醛为有刺激性气味的有毒物质，建议本试验在通风橱中操作。
- 3、当 A 测定大于 1 时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定，计算时需在公式中乘以相应稀释倍数；当 A 测定小于 0.15 时，建议适当增加土壤样本质量或减少提取液重新提取后再进行测定。

实验实例：

- 1、取 0.2g 土样 1 加入 1mL 提取液，振荡提取 1h，取上清按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.218-0.062=0.156，根据标准曲线 $y=0.7128x-0.0301$ ，计算 $x=0.261\mu\text{mol/mL}$ ，按样本质量计算速效钾含量得：速效钾含量(mg/kg 质量)= $0.039x \div W=0.039 \times 0.261 \div 0.0002=50.895$ mg/kg 质量。
- 2、取 0.2g 土样 2 加入 1mL 提取液，振荡提取 1h，取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.801-0.055=0.746。根据标准曲线 $y=0.7128x-0.0301$ ，计算 $x=1.089\mu\text{mol/mL}$ ，按样本质量计算速效钾含量得：速效钾含量(mg/kg 质量)= $0.039x \div W=0.039 \times 1.089 \div 0.0002=212.355$ mg/kg 质量。