

## 土壤全铁试剂盒说明书

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**

铁元素是一种十分重要的植物营养元素，土壤中铁含量直接影响着植物吸收利用以及生长代谢。

**测定原理**

在 pH2-9 范围内，盐酸羟胺将三价铁转化为二价铁，与邻菲罗琳反应生成橙红色配合物，在 510nm 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、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：液体 2mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂二：液体 6mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 4mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

**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，从烧杯口加入，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)		20
试剂一 (μL)	20	20
试剂二 (μL)	60	60
试剂三 (μL)	40	40
H <sub>2</sub> O (μL)	80	60
充分混匀，25℃ 静置 20min		
于微量石英比色皿/96 孔板，蒸馏水调零，测定 510nm 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： $y = 0.1569x - 0.0173$ ， $R^2 = 0.9992$

全铁含量 (mg/kg) =  $(\Delta A + 0.0173) \div 0.1569 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}})$   
 $= 254.94 \times (\Delta A + 0.0173) \div W$

V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应体系中加入样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，4mL，W：样本质量，g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.0785x - 0.0173$ ， $R^2 = 0.9992$

$$\begin{aligned} \text{全铁含量 (mg/kg)} &= (\Delta A + 0.0173) \div 0.0785 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ &= 509.55 \times (\Delta A + 0.0173) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.2mL; V 样: 反应体系中加入样本体积, 0.02mL; V 样总: 加入提取液体积, 4mL, W: 样本质量, g