

流动分析仪快速测定土壤全磷含量

李朝英¹, 郑路^{1, 2*}

(1. 中国林业科学研究院热带林业实验中心, 广西 凭祥 532600;

2. 广西友谊关森林生态系统国家定位观测研究站, 广西 凭祥 532600)

摘要: 土壤经碱熔法消解, 对连续流动分析仪和钼锑抗比色法所测土壤全磷含量进行比较分析, 探讨流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量的可行性。结果表明, 两种方法测定结果经 t 检验, 双尾 $P(T \leq t) = 0.5254$, 无显著性差异。回归直线方程 $y(\text{流动分析仪}-P) = 1.0606x(\text{钼锑抗比色法}-P) - 0.0191$, $R = 0.9900$ 。流动分析仪测定碱熔法土壤全磷的加标回收率在 98.09% ~ 102.89%, 3 个样品重复测定 5 次的相对标准偏差为 1.20% ~ 2.07%。流动分析仪精密度与准确性高, 试剂用量少, 检测效率高, 适用于批量土壤全磷的检测分析。

关键词: 流动分析仪; 土壤; 全磷

磷是植物生长所需的大量元素之一, 土壤中磷对植物营养有重要作用。准确测定土壤磷含量对于了解土壤供磷容量, 合理施肥, 有着直接的指导意义^[1-3]。土壤全磷消解方法主要有硫酸-高氯酸消解法和碱溶法等, 传统的标准检测方法为钼锑抗比色法。钼锑抗比色法的试剂加入及酸度调整等均由人工操作, 测定结果易受人为因素影响而存在检测误差。检测操作繁琐费时, 人员工作强度大, 效率低, 难以准确高效地完成批量样品的检测任务^[4-6]。近年来, 有研究结合磷钼蓝比色法原理, 利用流动分析仪代替人工测定土壤全磷。流动分析仪由蠕动泵连续定量输送试剂和待测样, 按一定顺序注入管路中, 并由均匀的气泡隔开成一个个独立的小片断。显色混合液经比色检测, 检测器将信号传入电脑, 通过软件自动建立标准曲线, 处理数据, 出具报告。流动分析仪因试剂和待测样的加入量准确, 显色时间、温度等显色反应条件控制一致, 避免了人工检测的操作误差, 提高了检测精度。张英利等^[7]提出了流动分析仪测定硫酸-高氯酸消解法土壤全磷的方法, 吴玉萍等^[8]提出了流动分析仪测定硝酸-高氯酸-氢氟酸消解法土壤

全磷和全钾的方法, 其相对标准偏差均小于 3%, 回收率均在 97% ~ 103%, 准确性较高。同时, 流动分析仪的高度自动化极大地提升了检测效率, 降低了人员工作强度, 适用于大量样品的检测分析^[9]。但是, 由于流动分析仪测定全磷的方法是结合土壤消解法特点和磷钼蓝比色法要求, 以及流动分析仪检测技术而确定相应的检测条件, 由此建立的测定方法具有一定的专一性。碱熔法与硫酸-高氯酸消解法的消解体系截然不同, 消解液成分及酸度差异较大。流动分析仪测定硫酸-高氯酸消解法土壤全磷的方法不适用于碱熔法土壤全磷的测定。目前, 利用流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量的报导甚少, 流动分析仪代替人工测定碱熔法土壤全磷的可行性不明确。

研究表明, 硫酸-高氯酸消解法对酸性土壤消解不充分。碱熔法是土壤全磷消解的标准方法之一, 对各类土壤均能消解充分, 可联合检测全磷和全钾, 且避免使用具有强氧化性及易爆特性的高氯酸, 有利于安全、准确、高效地检测^[9-11], 但碱熔法测定土壤全磷的应用优势少有关注。因此, 利用流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量的方法讨论不仅是土壤全磷测定方法的完善与补充, 而且对充分开发流动分析仪的检测功能和利用碱熔法的优势, 满足多种检测需求有着重要意义。鉴此, 本实验利用流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量, 并与传统的钼锑抗比色法相比, 探讨流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量的可行性, 以期为准准确高效地检测批量土壤全磷提供参考与指导。

收稿日期: 2019-07-09; 录用日期: 2019-09-13

基金项目: 广西自然科学基金 马尾松人工林采伐剩余物分解及提升地力研究 (No. 2013GXNSFAA019106)。

作者简介: 李朝英 (1971-), 女, 甘肃酒泉市人, 实验师, 本科, 主要从事实验室检测分析工作。E-mail: lzying1877@sina.com。

通讯作者: 郑路, E-mail: zhengluli@sina.com。

1 材料与方法

1.1 仪器

电子分析天平(万分之一);AA3流动分析仪(配置MT7模块,AACE操作软件);UV756紫外分光光度计;烘箱;马弗炉;高温电炉。

1.2 样品

2018年8月采集于广西友谊关森林生态系统国家定位观测研究站设置在青山实验场人工林10个样地。样地处于中国林科院热带林业实验中心青山实验场(21°57'~22.19°N,106°39'~106°59'E)。属南亚热带季风气候,日照充足,降水充沛。年均温度20.5~21.7℃,年降水量1200~1500 mm,主要地貌类型以低山丘陵为主,地带性土壤为赤红壤。每个样点剖面层次为0~20 cm。10个土样风干后碾压过1.68 mm筛,以四分法取得对角土样,再碾压处理过0.3 mm筛,密封于聚丙烯袋中,编号样1~10。国家标准土样[GBW(E)0070043(0.86 g/kg±0.07 g/kg)]编号为S₁。

1.3 实验方法

1.3.1 土壤样品消解

称取土壤样品及标准土样0.2 g铺于镍坩埚底部,加2~3滴无水乙醇润湿土样,加固体氢氧化钠2 g平铺在土样表面。坩埚放于高温电炉加热,氢氧化钠熔融后,将坩埚加盖放于马弗炉中加热,400℃保持20 min,继续加热到720℃保持45 min。待降温后取出坩埚,加入约10 mL水,在电炉上低温加热,溶解坩埚内的熔块,用8 mL的4.5 mol/L硫酸将坩埚内及盖子清洗干净,再用热水冲洗坩埚,冲洗物皆顺漏斗进入容量瓶内,再加5滴1:1浓盐酸,冷却后,用水定容至50 mL。空白不加土壤,同上操作。

1.3.2 方法回收率实验

土壤样1、7为一组,两个土壤样各称0.2 g,共称6组。3组土壤各加入0.1%的磷酸二氢钾0.5 mL,3组土壤各加入1%的磷酸二氢钾0.25 mL,6组土壤低温烘干后,加2~3滴无水乙醇润湿土样品,加入氢氧化钠2 g,后续加热消解同1.3.1操作。消解液经检测后,回收率计算公式:全磷回收率=(加标后磷浓度-样品磷浓度)/加标磷浓度×100%

1.3.3 流动分析仪法

1.3.3.1 试剂 进样清洗液(硫酸5.3 mL,58.5 g

氯化钠,溶解定容至1000 mL),0.3 mol/L氢氧化钠(12 g氢氧化钠溶于1000 mL水中),系统清洗液(0.5 g十二烷基硫酸钠加入250 mL去离子水中),钼酸铵溶液(1.0 g钼酸铵、0.05 g酒石酸锑钾及9.5 mL硫酸,定容100 mL),抗坏血酸溶液(1.5 g抗坏血酸溶于100 mL水中),所用试剂均为分析纯级别。

1.3.3.2 仪器条件 流速60个/h,进样:清洗液=3:1,进样时间48 s,清洗时间24 s,仪器默认设置基线和漂移校正,自动基线参比为5%,比色滤光片波长为660 nm。土壤全磷含量小于5 mg/L,选择低浓度吸样管进样。

1.3.3.3 流动分析仪-MT7模块管路 由图1可见10个管路所对应的试剂溶液依次为进样清洗液、空气、0.3 mol/L氢氧化钠、水、空气、0.3 mol/L氢氧化钠、消解液进样、钼酸铵溶液、抗坏血酸溶液、水。

1.3.3.4 标准曲线建立 抽取100 mg/L磷标准液0、0.10、0.25、0.50、0.75、1.00、1.25 mL,由1.3.1中的消解空白液定容至25 mL,配制得磷浓度为0、0.40、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mg/L的标准系列溶液,在上述条件下检测,建立全磷的标准曲线: $y=1.001x-0.007$ ($R^2=0.9998$)。

1.3.4 钼锑抗比色法

1.3.4.1 试剂 钼锑抗显色剂(153 mL硫酸倒入水中,搅拌冷却,倒入溶有10 g钼酸铵的水溶液中,将硫酸溶液倒入,加入5 g/L酒石酸锑钾100 mL,水定容1 L后即得钼锑抗贮存液。检测前取100 mL钼锑抗贮存液加入1.5 g抗坏血酸,搅拌溶解即得显色剂),2,4-二硝基酚,0.5 mol/L硫酸,2 mol/L氢氧化钠。以上试剂均为分析纯级别。

1.3.4.2 标准曲线建立 抽取10 mg/L磷标准液0、0.25、0.50、1.00、2.00、3.00 mL,加入5 mL空白,配制磷浓度为0、0.10、0.20、0.40、0.80、1.20 mg/L的标准系列溶液。加入1滴2,4-二硝基酚,逐滴加入2 mol/L氢氧化钠至溶液变为淡黄色,再逐滴加0.5 mol/L硫酸至溶液变为无色,再加入一滴2 mol/L氢氧化钠,溶液变为淡黄色。加入2.5 mL显色剂,定容25 mL,摇匀,静置40 min,于紫外分光光度计波长700 nm处检测,建立全磷的标准曲线: $y=1.801x-0.0032$ ($R^2=0.9998$)。

1.3.4.3 抽取1.3.1、1.3.2中适量土壤消解液,按1.3.4.2调整酸碱度,加显色剂,定容及检测。

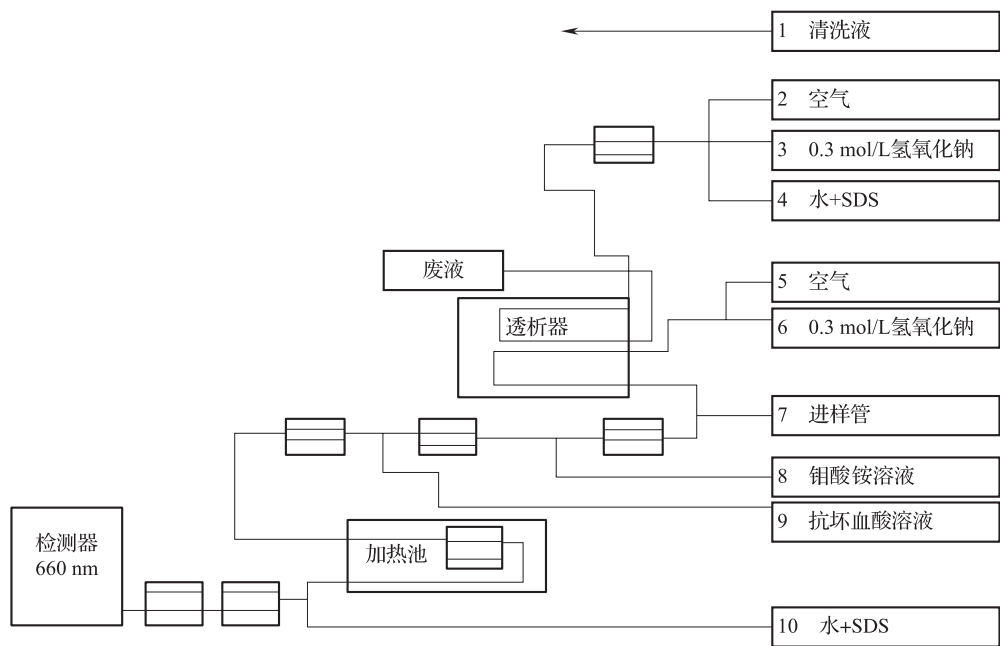


图 1 AA3 流动分析仪 -MT7 模块管路图

1.4 数据分析

本实验数据采用 Excel 2003 软件进行数据统计、绘图，进行 *t* 检验 - 成对双样本均值分析，利用直线方程进行回归分析，检验相关系数的显著性。流动分析仪重复性实验中，选择 3 个土壤，对其全磷分别重复测定 5 次。测量值 *X_i* 的算术平均值为样品全磷的估计值，标准偏差用贝塞尔公式计算，即：

$$S(x) = \left[\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right]$$

2 结果与分析

2.1 流动分析仪与钼锑抗比色法的比较

由图 2 可见，流动分析仪与钼锑抗比色法测定 11 个土壤样品，每个土壤样品的同一消解液均测定 3 次，全磷含量分别在 0.190 ~ 0.885、0.197 ~ 0.838 g/kg，流动分析仪与钼锑抗比色法测定的全磷含量平均值分别为 0.414 2、0.408 6 g/kg。

由表 1 可见，两种方法的测定结果经 *t* 检验，双尾 *P* (*T* ≤ *t*) = 0.525 4，无显著性差异。流动分析仪与钼锑抗比色法测定的全磷含量进行相关性分析，两种方法呈极显著性的线性相关，相关系数 *R* = 0.990 0。由图 3 可见，两种方法测定结果的回归直线方程 *y* (流动分析仪 - *P*) = 1.060 6*x* (钼锑抗比色法 - *P*) - 0.019 1。

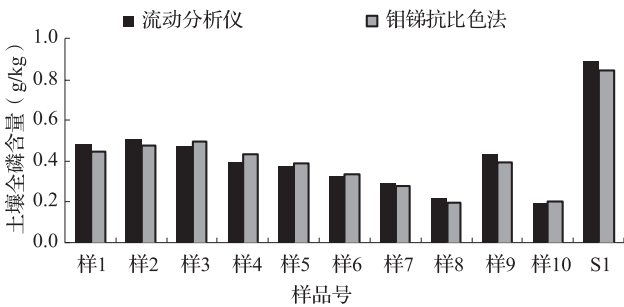


图 2 流动分析仪法与钼锑抗比色法测定土壤全磷含量的比较

表 1 流动分析仪和钼锑抗比色法测定土壤全磷含量的 *t* 检验 (成对双样本均值分析)

	流动分析仪	钼锑抗比色法
全磷含量平均值 (g/kg)	0.414 2	0.408 6
方差	0.035 3	0.030 7
观测值	11	11
泊松相关系数	0.990 0	
假设平均差	0	
df	10	
<i>t</i> Stat	0.658 0	
<i>P</i> (<i>T</i> ≤ <i>t</i>) 单尾	0.262 7	
<i>t</i> 单尾临界	1.812 5	
<i>P</i> (<i>T</i> ≤ <i>t</i>) 双尾	0.525 4	
<i>t</i> 双尾临界	2.228 1	

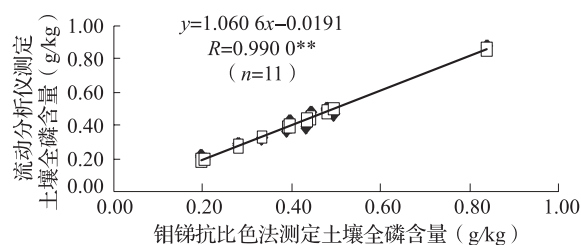


图3 流动分析仪和钼锑抗比色法测定土壤全磷含量的相关分析

表2 流动分析仪测定土壤全磷的加标回收率结果

样品	全磷浓度 (mg/L)	加标磷浓度 (mg/L)	检测磷浓度			均值 (mg/L)	加标回收率 (%)
			1	2	3		
样1	1.92	2.277 5	4.23	4.15	4.18	4.19	99.63
样7	1.16	2.277 5	3.36	3.41	3.40	3.39	98.09
S1	3.54	2.277 5	5.74	5.82	5.80	5.79	98.61
样1	1.92	1.138 8	3.03	3.10	3.06	3.06	100.07
样7	1.16	1.138 8	2.30	2.26	2.27	2.28	98.41
S1	3.54	1.138 8	4.70	4.72	4.72	4.71	102.89

表3 流动分析仪法测定土壤全磷含量重复性试验

样品	全磷浓度 (mg/L)					均值 (mg/L)	标准偏差 (mg/L)	相对标准偏差 (%)
	1	2	3	4	5			
样1	1.92	1.96	1.88	1.92	1.86	1.91	0.04	2.07
样7	1.16	1.18	1.12	1.11	1.08	2.73	0.04	1.44
S1	3.54	3.50	3.58	3.47	3.50	3.52	0.04	1.20

注: 相对标准偏差 = 标准偏差 / 均值 × 100%

3 讨论

流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量是利用磷钼蓝原理, 消解液中的磷酸盐和钼酸铵在一定酸性条件形成蓝色的磷钼杂多酸, 其 Mo^{6+} 被还原剂抗坏血酸还原为 Mo^{5+} , 生成钼蓝物质。本实验中钼锑抗比色法的显色混合液的 $\text{pH}=0.94$, 流动分析仪的显色混合液的 $\text{pH}=0.95$, 两种方法的 H^+ 浓度均为 0.11 mol/L 。两种方法显色酸度一致, 与磷钼蓝的适宜显色酸度一致^[12-14]。

流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量所用试剂较少, 0.3 mol/L 氢氧化钠流速为 0.8 mL/min , 钼酸铵溶液和抗坏血酸溶液的流速均为 0.23 mL/min 。测定 100 个样品, 0.3 mol/L 氢氧化钠用量不超过 200 mL , 钼酸铵溶液和抗坏血酸溶液用量均小于 50 mL 。钼锑抗比色法按抽取 5 mL 待测液, 定容 25 mL 计, 每个样品加入 2 mol/L 氢氧化钠量约 2.5

2.2 流动分析仪测定结果的准确性与精密度分析

采用标准加入法进行方法回收率检验。2 组加标的土壤样品经碱熔法消解后, 每组采用流动分析仪测定 3 次。由表 2 可见, 流动分析仪测定全磷含量的回收率在 $98.09\% \sim 102.89\%$ 。

在相同检测条件下, 使用流动分析仪对 3 个土壤的全磷, 分别重复测定 5 次, 测定结果相对标准偏差在 $1.20\% \sim 2.07\%$ (表 3)。

mL , 钼酸铵和抗坏血酸的混合溶液量为 2.5 mL 。检测 100 个样品, 2 mol/L 氢氧化钠用量约 250 mL , 钼酸铵和抗坏血酸混合溶液用量约为 250 mL 。流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量的试剂用量明显小于钼锑抗比色法的。使用流动分析仪测定 100 个土壤全磷含量的用时为 4 h , 人员只负责试剂配置, 仪器参数设置工作; 使用钼锑抗比色法测定 100 个土壤全磷含量的检测用时达 8 h 以上, 人员工作包括试剂配制, 抽取待测液, 酸碱调整及定容, 比色检测等一系列繁杂内容, 人员工作强度较大。流动分析仪的检测效率是钼锑抗比色法的 2 倍以上, 节省人工, 节约试剂, 且避免了人工操作引起的人为误差, 检测准确、高效、经济。

4 结论

流动分析仪测定碱熔法土壤全磷含量的回收率在 $98.09\% \sim 102.89\%$, 相对标准偏差在

1.20% ~ 2.07%。方法精密度及准确性良好。与钼锑抗比色法所测结果无显著性差异。流动分析仪与钼锑抗比色法所测结果的回归直线方程 $y(\text{流动分析仪}-P) = 1.0606x(\text{钼锑抗比色法}-P) - 0.0191$, $R = 0.9900$ 。流动分析仪测定碱熔法土壤全磷所用试剂量少, 检测效率高, 适用于批量土壤全磷的检测分析。

参考文献:

- [1] 向万胜, 黄敏, 李学垣. 土壤磷素的化学组分及其植物有效性[J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(6): 663-670.
- [2] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [3] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [4] 卢超. 两种测定湿地植物总磷方法的比较研究[J]. 江西农业学报, 2009, 21(8): 142-144.
- [5] 陈新萍. 土壤中全磷测定方法的改进试验[J]. 塔里木大学学报, 2005, 17(2): 96-98.
- [6] LY/T 1232-2015, 森林土壤磷的测定[S].
- [7] 张英利, 许安民, 杨玉秀, 等. 自动分析仪测定土壤全磷的方法探讨[J]. 干旱地区农业研究, 2007, 25(4): 168-171.
- [8] 吴玉萍, 李应金, 赵立红, 等. 连续流动分析法测定土壤中全磷、全钾的含量[J]. 西南农业学报, 2013, 26(5): 1941-1945.
- [9] 叶祥盛, 吴晓荣, 赵竹青. 流动注射仪法与传统方法测定土壤全磷的比较[J]. 实验室研究与探索, 2010, (3): 50-53.
- [10] 文衍秋, 郭焱, 张国庆. 二种测定土壤全磷含量方法测定效率的比较分析[J]. 农业科学, 2013, 3(6): 1-4.
- [11] HJ 632-2011, 土壤总磷的测定碱熔-钼锑抗分光光度法[S].
- [12] Murphy J, Riley J P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters[J]. Analytica Chimica Acta, 1962, 27: 31-36.
- [13] Zhang J Z, Fischer C J, Ortner P B. Optimization of performance and minimization of silicate interference in continuous flow phosphate analysis[J]. Talanta, 1999, 49(2): 293-304.
- [14] 张辉, 肖国壮, 李丽蓓, 等. 钼锑抗比色法测定土壤全磷的最佳显色条件和比色波长[J]. 土壤肥料, 1992, (2): 46-48.

Rapid determination of total phosphorus in soil by flow analyzer

LI Zhao-ying¹, ZHENG Lu^{1, 2*} (1. Experimental Center of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Pingxiang Guangxi 532600; 2. Guangxi Youyiguan Forest Ecosystem Research Station, Pingxiang Guangxi 532600)

Abstract: Soil samples were digested by alkali melting method. The contents of total phosphorus in soil determined by continuous flow analyzer and antimony colorimetric methods were compared and analyzed. The feasibility of determining total phosphorus content in soil by continuous flow analyzer was discussed. The results showed that there was no significant difference and there was a good correlation between the two methods. The regression linear equation was $y(\text{flow analyzer}-P) = 1.0606x(\text{molybdenum-antimony anti-colorimetric method}-P) - 0.0191$, $R = 0.9900$. The recovery of total phosphorus in alkali-fused soils was 98.09% ~ 102.89% by flow analyzer, and the relative standard deviation was 1.20% ~ 2.07% after repeated determination of three samples for five times. Flow analyzer had high precision and accuracy, less reagent consumption and high detection efficiency. It was suitable for the detection and analysis of total phosphorus for massive soil samples.

Key words: flow analyzer; soil; total phosphorus