

电感耦合等离子发射光谱法与钒钼黄比色法在有效磷含量测定中的应用比较

华丽霞^{1,2}, 代顺冬¹, 何炼^{1,2}, 叶鹏盛^{1,2*}, 孙小芳^{1,2}, 况再银¹,
曾华兰^{1,2}, 蒋秋平¹, 张敏¹

(1. 四川省农业科学院经济作物研究所, 四川 成都 610300;

2. 农业农村部西南作物有害生物综合治理重点实验室, 四川 成都 610300)

摘要: 在农业生产过程中需要对土壤中的有效磷含量以及肥料中的有效磷含量进行检测, 为配方施肥提供重要依据, 有效磷检测方法的准确性是评判肥料质量高低、实现配方施肥的关键。研究对电感耦合等离子发射光谱法与钒钼黄比色法这两种有效磷检测方法的灵敏度和准确度进行了比较, 明确了电感耦合等离子发射光谱法在 213.6 nm 条件下的磷检出限为 0.05 mg/L, 钒钼黄比色法在 400 nm 检测波长的灵敏度最高, 检出限为 0.32 mg/L。对两种检测方法的检测准确度进行比较, 结果表明电感耦合等离子发射光谱法对不同浓度的有效磷检测准确度均高于 96%, 其准确度受磷浓度的影响小; 传统的钒钼黄比色法检测准确度受磷浓度、检测波长影响较大, 对磷含量低于 5 mg/L 的样品检测准确度下降, 且低于电感耦合等离子发射光谱法的检测准确度。研究结果认为对于未知浓度范围的样品, 钒钼黄比色法在 400 nm 波长检测条件下的检测结果较为理想。

关键词: 有效磷; 电感耦合等离子体发射光谱法; 钒钼黄比色法; 肥料

磷是植物生长发育所需的元素, 与氮、钾元素并称为植物生长所需的三大重要营养元素, 对植物产量以及抗逆性的提高具有重要的作用^[1-2]。植物根系只能从土壤水分中吸收溶解于水的有效磷, 由于肥料的不合理施用, 磷容易被固化, 最终导致土壤水分中的有效磷含量过低, 磷肥利用率低^[3-4]。从精准农业发展角度考虑, 在农业生产过程中需要对土壤中的有效磷含量以及肥料中的有效磷含量进行检测, 为配方施肥提供重要依据。有效磷检测方法的准确性是评判肥料质量高低、实现配方施肥的关键。

钒钼黄比色法是传统的用于有效磷检测的

技术方法之一, 正磷酸盐与钼酸盐以及偏钒酸盐在酸性条件下形成稳定的黄色络合物, 黄色的深浅程度与有效磷含量在一定的浓度范围内成正相关, 通过测定 400 ~ 490 nm 吸光值来确定待测样品有效磷含量^[5]。该检测方法操作简单, 检测成本较低, 已经被广泛应用^[6-7], 但是无法实现高通量检测。电感耦合等离子发射光谱仪 (ICP-OES) 以电感耦合高频等离子体为激发光源, 利用不同元素的原子或离子发生特征光谱进行元素的定性与定量分析, 可用于检测各种微量元素, 具有适用范围广、检测方便、可实现高通量检测等优点, 已在各种元素检测中展现其优势^[8-10]。

虽然已经有很多利用电感耦合等离子发射光谱法检测磷元素的报道^[11-12], 但是关于电感耦合等离子发射光谱法与传统钒钼黄比色法这两种磷检测方法在灵敏度及准确度方面的比较分析报道较少。本研究主要比较了电感耦合等离子发射光谱法与钒钼黄比色法这两种检测方法在有效磷测定中的灵敏性和准确性, 为相关人员提供检测方法选择的依据。

收稿日期: 2023-05-08; 录用日期: 2023-07-10

基金项目: 四川省科技厅自然科学基金项目 (2023NSFSC1261); 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系 (CARS-21); 现代农业产业技术体系四川豆类杂粮创新团队 (SCCXTD-2020-20); 四川省财政自主创新项目 (2022ZZCX081, 2024ZZCX007); 四川省农业科学院拔尖人才研究基金 (2020BJRC023)。

作者简介: 华丽霞 (1983-), 副研究员, 博士, 从事农业有益微生物在化肥农药减施增效中的利用研究。E-mail: pagenew@163.com。

通讯作者: 叶鹏盛, E-mail: yeps18@163.com。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

电感耦合等离子发射光谱仪 ICPE-9800 (岛津, 日本); 紫外分光光度计 UV-8000s (元析, 中国); 纯水系统 ELIX3 (Milli Pore, 法国)。

磷标准品 GSB04-1741-2004 (a) (1 mg/mL) 由国家有色金属及电子材料分析测试中心生产; 分析纯磷酸钙由天津科密欧化学试剂有限公司生产; 钒钼酸显色液按照杨剑虹等^[5]方法配制, 具体配制方法如下: 超纯水与浓硝酸在按照 1:2 比例混匀, 命名为 A 液; 称取偏钒酸铵 2.5 g 溶于 500 mL 热水中, 冷却后加入 20 mL 浓硝酸, 加入超纯水定容至 1000 mL, 配制成 0.25% 偏钒酸铵溶液, 命名为 B 液; 称取 50 g 钼酸铵溶于 800 mL 热水中, 冷却后加超纯水定容至 1000 mL, 配制成 5% 钼酸铵溶液, 命名为 C 液; 取等量的 A、B、C 液体混匀, 配制成钒钼酸显色液。

1.2 试验方法

1.2.1 磷标准系列工作液的制备

分别吸取 0.00、0.05、0.25、0.50、1.00、2.00 mL 磷标准溶液置于 50 mL 容量瓶中, 加入超纯水定容至 50 mL, 混匀, 配制成终浓度为 0.00、1.00、5.00、10.00、20.00、40.00 mg/L 的磷标准系列工作液, 备用。

1.2.2 光谱仪工作参数设置

光谱仪射频功率为 1.2 kW, 等离子气体为 14.0 L/min, 辅助气为 1.2 L/min, 载气为 0.7 L/min, 曝光时间 5 s, 灵敏度为宽范围, 观测方向为轴向; 标准矩管; 分析谱线: 177.5、178.3、213.6 nm。

1.2.3 标准曲线的绘制

电感耦合等离子发射光谱法标准曲线绘制: 在设定好的光谱仪工作参数下测定上述磷标准系列工作液, 绘制各分析谱线的标准曲线, 选择拟合度最高的分析谱线进行样品的检测。

钒钼黄比色法标准曲线绘制: 取上述磷标准系列工作液 5 mL, 加超纯水定容至 15 mL, 然后加入 5 mL 钒钼酸比色液, 充分混匀后静置 20 min, 分别测定各浓度磷标准工作液对 400、450、490 nm 波长的吸光度, 绘制不同检测波长条件下的标准曲线。

1.2.4 最低检出限测定

连续测定空白样品 10 次, 计算测定的磷含量

并计算标准偏差, 检出限 (mg/L) = 标准偏差 \times 3。

1.2.5 准确度分析

用电感耦合等离子发射光谱法及钒钼黄比色法分别测定浓度为 5.00、10.00、20.00 mg/L 的磷标准工作液中有效磷的含量, 评价这两种方法的准确度。准确度 (%) = $(1 - |\text{测算值} - \text{真实值}| / \text{真实值}) \times 100$ 。

1.2.6 待测样品的制备与检测

称取磷酸钙 1.25 g 置于 500 mL 三角瓶中, 加纯净水 250 mL, 121 °C 高压灭菌 20 min, 待冷却至室温后, 取上清并用孔径为 0.22 μm 的滤膜过滤, 获得有效磷待测溶液。将过滤后的待测液用超纯水稀释 5 倍后分别用电感耦合等离子发射光谱法及钒钼黄比色法进行有效磷含量检测。以超纯水作为空白对照。

1.3 统计分析

采用 Excel 2003 及 DPS 9.01 进行相关数据统计分析 (Tukey 法)。

2 结果与分析

2.1 光谱分析谱线的选择及检出限

由于电感耦合等离子发射光谱仪 ICPE-9800 具有独特的真空光室, 可真空紫外波段 (<200 nm) 的灵敏谱线, 因此本实验比较了 177.4、178.3 及 213.6 nm 3 条光谱线对磷的检测强度, 结果发现 213.6 nm 光谱线的检测强度最高、灵敏度最好, 不同光谱线标准曲线如图 1 所示, 后续将选择 213.6 nm 作为分析谱线对样品进行检测。用 213.6 nm 分析谱线对空白样品进行连续 10 次测定, 计算得到 213.6 nm 光谱对磷的最低检出限为 0.05 mg/L (表 1)。

2.2 钒钼黄比色法不同检测波长标准曲线及最低检出限

在 400、450 及 490 nm 波长条件下测定磷系列标准工作液吸光值, 绘制不同检测波长磷检测标准曲线, 结果如图 2 所示, 400 nm 检测波长标准曲线相关系数最高, $R=1$ 。

在 400、450 及 490 nm 波长检测条件下对空白样品连续进行 10 次测定, 计算不同检测波长的最低检出限, 结果表明, 在 400 nm 检测波长的检出限为 0.32 mg/L, 450 nm 检测波长的检出限为 1.21 mg/L, 490 nm 检测波长的检出限为 1.48 mg/L (表 2)。

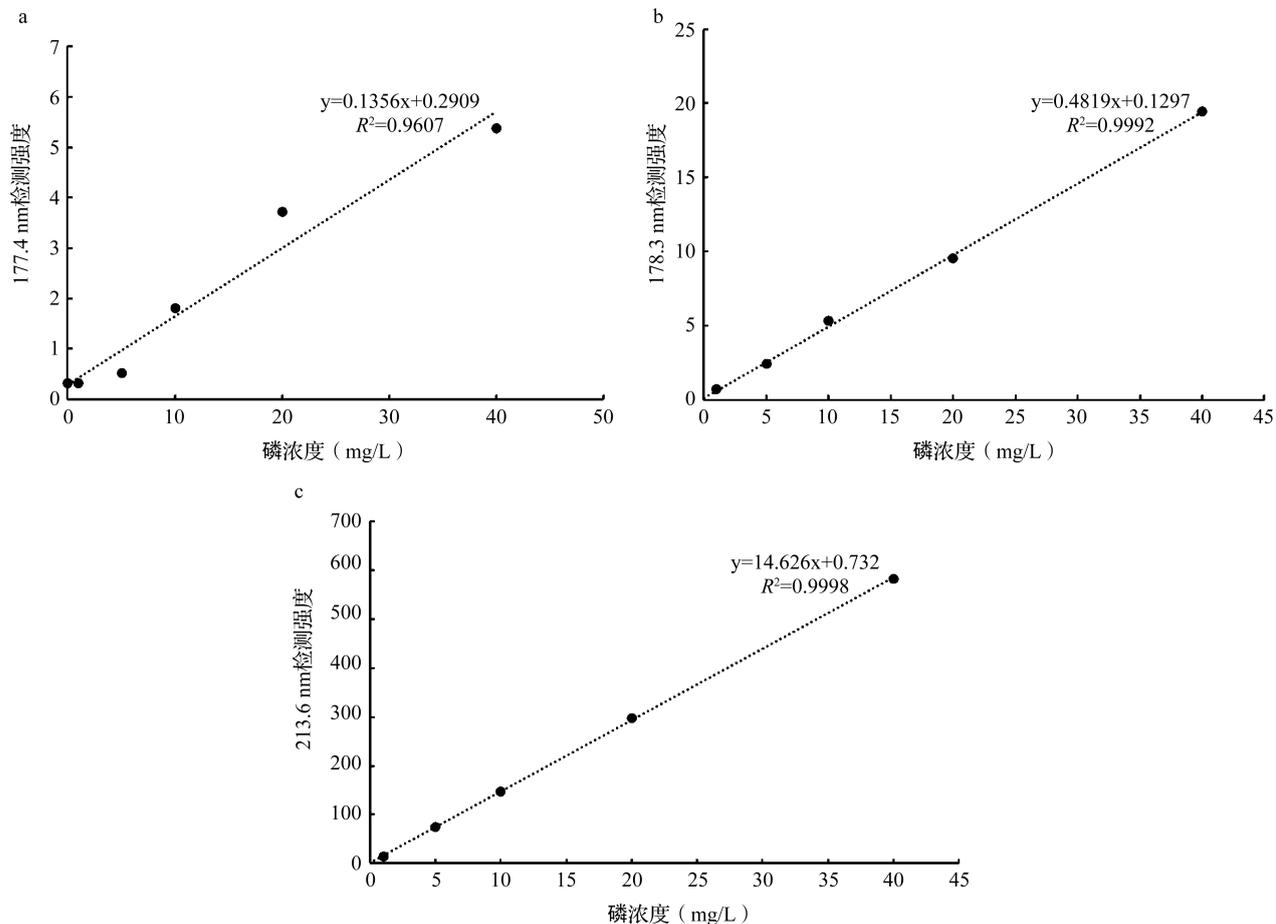


图 1 不同吸收光谱标准曲线

表 1 电感耦合等离子发射光谱法最低检测限测定

测定编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	标准偏差	检出限 (mg/L)
测定结果 (mg/L)	0.093	0.056	0.078	0.069	0.085	0.089	0.080	0.04	0.075	0.078	0.015	0.05

2.3 电感耦合等离子发射光谱法与钒钼黄比色法的准确度比较

用电感耦合等离子发射光谱法与钒钼黄比色法分别对浓度为 5、10、20 mg/L 的磷标准工作液进行了检测。检测结果如表 3 所示，结果表明光谱法对 3 种不同浓度的磷标准工作液的检测准确度均达到 96% 以上；钒钼黄比色法在检测有效磷浓度低于 10 mg/L 的样品时，准确度均低于 90%，在波长 400 nm 条件下检测结果的准确度最高，为 85.0%，在波长 490 nm 条件下，检测结果的准确度最低，只有 20.6%；相比之下，对于磷浓度大

于 10 mg/L 的样品，钒钼黄比色法在 3 种检测波长条件下均能获得准确度高于 95% 的检测结果 (表 3)。

2.4 电感耦合等离子发射光谱法与钒钼黄比色法对待测样品检测结果比较

用电感耦合等离子发射光谱法与钒钼黄比色法对待测样品中的有效磷含量进行检测，结果表明两种方法的检测结果并无显著性差异，钒钼黄比色法在 400 nm 检测条件下的检测结果与电感耦合等离子发射光谱法的检测结果最接近 (表 4)。

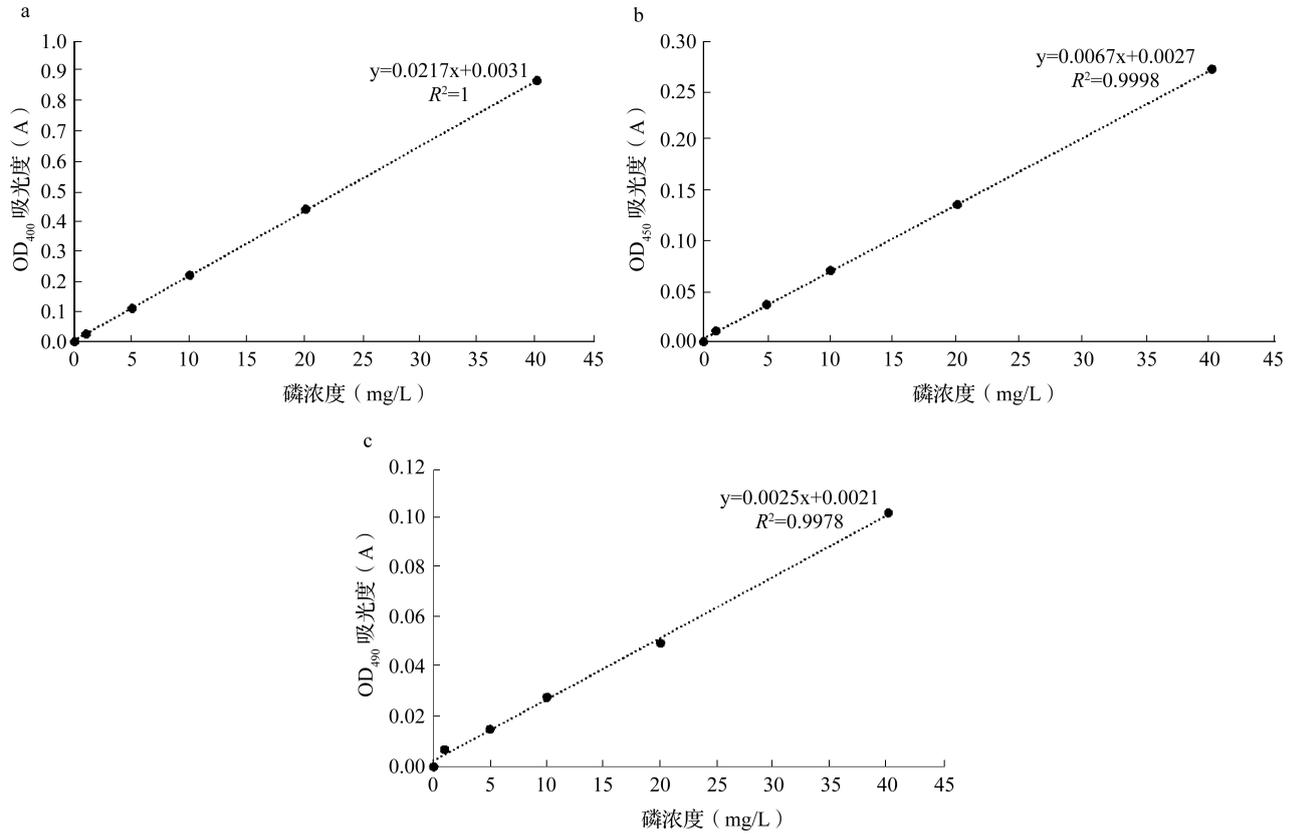


图 2 钒钼黄比色法不同检测波长的标准曲线

表 2 钒钼黄比色法不同检测波长最低检出限

检测波长 (nm)	平均检测结果 (mg/L)	标准偏差	检出限 (mg/L)
400	0.03	0.11	0.32
450	0.15	0.40	1.21
490	0.84	0.49	1.48

表 3 电感耦合等离子体发射光谱法与钒钼黄比色法的准确度比较分析

标准液浓度 (mg/L)	光谱法检测均值 (mg/L)	钒钼黄比色法检测均值 (mg/L)			光谱法准确度 (%)	钒钼黄比色法准确度 (%)		
		400 nm	450 nm	490 nm		400 nm	450 nm	490 nm
5	4.87	4.25	3.23	1.03	97.4	85.0	64.6	20.6
10	9.63	9.83	10.00	9.83	96.3	98.3	100	98.3
20	19.37	19.58	19.10	19.43	96.85	97.9	95.8	97.2

表 4 电感耦合等离子体发射光谱法与钒钼黄比色法对待测样品检测结果比较

检测方法	波长 (nm)	检测结果 (mg/L)			均值 (mg/L)	标准差 (mg/L)	标准误 (mg/L)	5% 显著水平
		I	II	III				
光谱法	213.6	89.3	86.1	89.3	88.23	1.85	1.07	a
钒钼黄比色法	400	85.92	79.24	90.07	85.08	5.46	3.15	a

注：同列的相同字母表示差异不显著。

3 讨论

磷矿资源是磷肥生产的主要来源,具有不可再生性,全球磷矿资源正日益枯竭^[13]。我国是磷肥生产大国,又是磷肥消费大国,农业种植系统磷肥过量施用,大部分磷肥作为无效态在土壤中积累,最终导致农作物对磷的利用率下降,环境面源污染加剧^[14]。配方施肥是实现肥料高效利用、减少农业面源污染的重要手段^[15-16]。有效磷检测技术的可靠性是实现配方施肥的关键。

电感耦合等离子发射光谱法在磷以及其它元素检测方面具准确度高、灵敏度好、检测范围广的优点,可减少因为样品量大所产生的人为误差。邓羨羨等^[17]利用电感耦合等离子发射光谱法测定土壤中的六价铬,检出限为 0.08 mg/kg,优于标准检测方法 HJ 1082—2019。赵兢兢等^[18]利用电感耦合等离子发射光谱法同时测定河道底泥中的铁和锰元素,检出限分别为 0.05 和 0.02 mg/kg,精密度和准确度均能满足土壤环境监测分析的基本要求,为环境监测提供了一个快速、安全、有效的检测方法。

钒钼黄比色法和钼蓝比色法是传统的有效磷检测方法,但钒钼黄比色法的稳定性优于钼蓝比色法,其应用领域较钼蓝比色法广。赵平娟等^[19]用钒钼黄比色法对不同食品中的磷含量进行测定,认为钒钼黄比色法的稳定性优于钼蓝比色法,样品的前处理较钼蓝比色法简单。张美等^[20]用钒钼黄比色法比较了大米和地表水样本中的磷含量测定效果,认为该方法适用于大米及水样含磷量的检测。

本研究对电感耦合等离子发射光谱法与钒钼黄比色法这两种有效磷检测方法进行了比较,明确了电感耦合等离子发射光谱法在检测波长为 213.6 nm 条件下的磷检出限为 0.05 mg/L,明确了钒钼黄比色法在不同检测波长中检出限存在差异,400 nm 检测波长的灵敏度最高,检出限为 0.32 mg/L,同时,该波段的检测准确度最高,为 85.0%。因此,本研究认为钒钼黄比色法在 400 nm 波长检测条件下的灵敏度高于 450 与 490 nm 这两个检测波长的检测灵敏度。对两种不同检测方法的检测准确度进行比较发现,电感耦合等离子发射光谱法的准确度受磷浓度的影响小,对不同浓度的有效磷检测准确度均高于 96%;传统的钒钼黄比色法检测准确度受磷浓度、检测波长影响较大,对磷含量低于 5 mg/L 的样品检测准确度低于电感耦合等离子发射光谱法的检

测准确度,通过对不同检测波长的结果进行比较,本研究结果认为钒钼黄比色法在 400 nm 波长检测条件下较优。

4 结论

本研究明确了电感耦合等离子发射光谱法在检测波长为 213.6 nm 条件下的磷检出限为 0.05 mg/L,对于不同磷浓度范围的检测样品,检测准确度均高于 96%。钒钼黄比色法的检测结果受磷浓度、检测波长影响较大,在检测波长为 400 nm 时磷检出限最低,为 0.32 mg/L。在磷含量低于 5 mg/L 时,钒钼黄比色法的准确度低于电感耦合等离子发射光谱法的检测准确度。

参考文献:

- [1] Oldroyd G E D, Leysner O. A plant's diet, surviving in a variable nutrient environment[J]. *Science*, 2020, 368: 6386.
- [2] 王宁,袁美丽,陈浩. 磷添加对高氮条件下入侵植物节节麦竞争能力的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2022(12): 146-153.
- [3] 刘彩亮. 磷肥高效利用的分析及展望[J]. *磷肥与复肥*, 2016, 31(7): 41-42, 44.
- [4] Chen X H, Yan X J, Wang M K, et al. Long-term excessive phosphorus fertilization alters soil phosphorus fractions in the acidic soil of pomelo orchards[J]. *Soil and Tillage Research*, 2022, 215: 105214.
- [5] 杨剑虹,王成林,代亨林. 土壤农化分析与环境监测[M]. 北京: 中国大地出版社, 2008.
- [6] 李妍,李铁晶,王孝研,等. 钒钼酸铵分光光度法测定酵母废液中总磷[J]. *化学工程师*, 2011, 25(12): 32-33.
- [7] 王伯通,孙得芳,曹莹莹,等. 磷钒钼黄比色法快速测定复合肥料中聚合态磷[J]. *磷肥与复肥*, 2019, 34(4): 43-44, 50.
- [8] 张碧兰. 电感耦合等离子发射光谱法测定钨精矿中铁、锰、钼[J]. *世界有色金属*, 2019(24): 1-3.
- [9] 王珂,吴梅. 电感耦合等离子发射光谱法测定有机钼中的微量元素[J]. *石油炼制与化工*, 2020, 51(11): 76-81.
- [10] 喻婧. 电感耦合等离子发射光谱法测定镍精矿中镍钴铜锌镁铁锰[J]. *中国金属通报*, 2022(6): 8-10.
- [11] 贺璐,郑静. 电感耦合等离子体发射光谱法测定食品中钙、镁、磷、铁、锌、锰含量的不确定度评定[J]. *化学分析计量*, 2022, 3(12): 83-87.
- [12] 华丽霞,何炼,蒋秋平,等. 三个木霉菌株防病促生效应[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(3): 1123-1135.
- [13] Sattari S Z, van Itersum M K, Giller K E, et al. Key role of China and its agriculture in global sustainable phosphorus management[J]. *Environmental Research Letters*, 2014, 9

- (5): 054003.
- [14] Zeng Q, Qin L, Bao L, et al. Critical nutrient thresholds needed to control eutrophication and synergistic interactions between phosphorus and different nitrogen sources [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23 (20): 21008–21019.
- [15] Zhang W, Ma W, Ji Y, et al. Efficiency, economics, and environmental implications of phosphorus resource use and the fertilizer industry in China [J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2008, 80: 131–144.
- [16] Li H, Huang G, Meng Q, et al. Integrated soil and plant phosphorus management for crop and environment in China. A review [J]. *Plant and Soil*, 2011, 349: 157–167.
- [17] 邓凌凌, 马晶, 李丹琪, 等. 碱液提取-电感耦合等离子体发射光谱法测定土壤中的六价铬 [J]. *山东冶金*, 2022, 44 (6): 57–59.
- [18] 赵兢兢, 李璐, 王瑾, 等. 自动消解仪-电感耦合等离子体发射光谱法测定河道底泥中的铁和锰 [J]. *中国石油和化工标准与质量*, 2021, 41 (9): 57–58.
- [19] 赵平娟, 张丙春, 王磊, 等. 钒钼黄比色法测定食品中的磷含量 [J]. *山东农业科学*, 2009, 41 (2): 97–98.
- [20] 张美, 杨芳, 郭晓丽, 等. 大米和地表水中总磷含量的磷钒钼黄比色法测定 [J]. *武汉工程大学学报*, 2015, 37 (9): 29–34.

Comparison of inductively coupled plasma emission spectrometry and vanadium molybdenum yellow colorimetric methods on available phosphorus determination

HUA Li-xia^{1, 2}, DAI Shun-dong¹, HE Lian^{1, 2}, YE Peng-sheng^{1, 2*}, SUN Xiao-fang^{1, 2}, KUANG Zai-yin¹, ZENG Hua-lan^{1, 2}, JIANG Qiu-ping¹, ZHANG Min¹ (1. Industrial Crop Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu Sichuan 610300; 2. Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Southwest, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu Sichuan 610300)

Abstract: In the process of agricultural production, available phosphorus determination of cropland soil and fertilizer is necessary for formula fertilization protocol establishment. The accuracy of detection methods is important for judging the quality of fertilizer and realizing formula fertilization. In this study, the sensitivity and accuracy of inductively coupled plasma emission spectrometry (ICP-OES) and vanadium molybdenum yellow colorimetric methods were compared on available phosphorus determination, it was found that the determination limit of ICP-OES method was 0.05 mg/L at 213.6 nm wavelength, while it was 0.32 mg/L for the vanadium molybdenum yellow colorimetric method at 400 nm. The detection accuracy of the two methods was compared. It showed that the accuracy of ICP-OES method was not affected by phosphorus concentration as the determination accuracy of different phosphorus concentration standard samples was higher than 96%. However, the accuracy of traditional vanadium molybdenum yellow colorimetric method was greatly affected by phosphorus concentration and detection wavelength, as detection accuracy was greatly reduced for samples with phosphorus concentration less than 5 mg/L, and the accuracy was lower than that of ICP-OES method. Based on the results, 400 nm detection wavelength was a ideal condition for vanadium molybdenum yellow colorimetric method for phosphorus determination of unknown samples.

Key words: available phosphorus; inductively coupled plasma emission spectrometry; vanadium molybdenum yellow colorimetric method; fertilizer