

doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.23372

## 连续流动分析仪测定碳酸氢钠提取土壤有效磷的方法优化与研究

唐思宇, 张丽萍\*, 王久荣, 袁红朝, 贺 珍, 耿梅梅, 陈 闻

(中国科学院亚热带农业生态研究所重点实验室, 湖南 长沙 410125)

**摘要:** 为了提高土壤有效磷的检测灵敏度和检测效率, 对《土壤有效磷的测定 碳酸氢钠浸提-钼锑抗分光光度法》(HJ 704—2014) 及《森林土壤的测定》(LY/T 1232—2015) 中碳酸氢钠提取有效磷的检测方法进行了优化。设计了连续流动分析仪试剂配制方案及试剂流路, 探讨了浸提方式、振荡速度、浸提温度、浸提时间及检测波长等实验条件对测定结果的影响, 考察了方法的线性范围、检出限、精密度及准确度等参数, 并比较了分光光度法与连续流动分析仪法检测结果。结果表明, 在 880 nm 波长下, 优化后的连续流动分析仪法检测碳酸氢钠浸提的有效磷的线性范围为 0 ~ 3.00 mg/L, 相关系数  $R^2 > 0.999$ , 检出限为 0.004 mg/L, 变异系数  $< 5.0\%$ , 测定参比物质 NSA 2 [有效磷认定值  $(36 \pm 6)$  mg/kg]、NSA 4 [有效磷认定值  $(14.5 \pm 2.6)$  mg/kg]、标准物质 ASA-3a [有效磷认定值  $(29 \pm 3)$  mg/kg] 分别为 35.9、12.5 和 28.1 mg/kg, 均在认定值范围内, 可以准确测量有效磷低的土壤。优化后的连续流动分析仪法检测碳酸氢钠浸提土壤中有有效磷含量具有自动进样、在线除气泡、在线恒温显色检测、试剂用量少及环境友好等优点, 且实验周期短, 测得数据的灵敏度、精密度和准确度良好, 优势突出, 可为第三次全国土壤普查高效准确测量碳酸氢钠浸提有效磷含量提供技术依据。

**关键词:** 土壤; 碳酸氢钠浸提; 有效磷; 分光光度法; 连续流动分析仪

土壤有效磷指在植物生长期能够被植物根系吸收的土壤磷, 包括全部水溶性磷、部分吸附态磷及有机态磷, 有的土壤还包括某些沉淀态磷, 是评价土壤磷素养分供应水平高低的重要指标<sup>[1]</sup>。在农业生产中了解土壤有效磷的供应状况, 对于指导施用磷肥有着直接的意义<sup>[2-4]</sup>。目前, 测定土壤有效磷最常用方法是采取标准 HJ 704—2014 与 NY/T 1121.7—2014 规定的碳酸氢钠浸提剂提取, 钼锑抗分光光度法检测<sup>[5-8]</sup>。而钼锑抗分光光度法测有效磷需人工取样、赶气泡、调 pH、20℃ 以上环境显色后, 再检测, 整个实验周期长、操作繁琐。连续流动分析仪具有高度自动化、精度和灵敏度高优点, 已被应用于研究测定土壤中有有效磷<sup>[9-11]</sup>, 且标准 LY/T 1232—2015 已将连续流动分

析仪法作为测定有效磷的推荐方法之一。但实际运用该标准方法测定土壤有效磷时, 标准系列溶液最高点浓度需配到 10.0 mg/L, 仪器增益 (GAIN) 要调为 120 左右。在张英利等<sup>[12]</sup>、李小涵等<sup>[13]</sup> 的研究中指出, 基于化学反应的特征, 连续流动分析仪测定碳酸氢钠提取有效磷的灵敏度较低, 一般土壤提取液中的有效磷含量均低于 2.00 mg/L, 采用 0 ~ 10 mg/L 做校准曲线的线性范围过大, 且当连续流动分析仪增益大于 100 时, 仪器将有试剂吸收、基线噪音变大、测定低浓度土壤样品有效磷的精密度变差等问题。在标准 HJ 704—2014、NY/T 1121.7—2014 及 LY/T 1232—2015 中还存在有效磷提取振荡方式不明确, 提取频率、温度不一致等问题。针对以上问题, 实验依据有效磷钼锑抗显色原理及连续流动分析仪的特点, 用标准物质、参比土壤及实际土壤作为试样, 重新设计连续流动分析仪试剂配制方案及试剂流路, 以提高连续流动分析仪检测有效磷的灵敏度, 确认提取振荡方式、速度、时间、温度及检测波长等实验条件, 考察方法的线性范围、检出限、精密度及准确度等参数, 并比较了分光光度法与连续流动分析仪法对 16 个实

收稿日期: 2023-06-23; 录用日期: 2023-08-19

基金项目: 中国科学院仪器功能开发项目 (项目名称: 恒温土壤微生物量培养-熏蒸装置的研制)。

作者简介: 唐思宇 (1997-), 助理工程师, 硕士, 主要从事农业生态环境中碳、氮、磷等元素循环的研究, E-mail: tsy@isa.ac.cn。

通讯作者: 张丽萍, E-mail: zlp@isa.ac.cn。

际土壤样品有效磷的检测结果,发现经优化后的连续流动分析仪法无论是检测土壤中高含量还是低含量有效磷,与分光光度法检测结果无显著差异。经优化后的连续流动分析仪法检测土壤有效磷具有提取液自动进样、在线除气泡、恒温显色检测,试剂用量少,对环境友好,及灵敏度、精度、准确度高优点,适用于大批量土壤样品有效磷检测,特别是可为2021年启动的全国第三次土壤普查中采用碳酸氢钠浸提法测定低含量的土壤有效磷提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

16个供试样品(编号为S0001~S0016)由中国科学院亚热带农业生态研究所科研人员在湖南省内观测站点(包括湘潭、桃源、金井、北山、岳阳等地)采取的实际土样,参照标准《土壤检测第1部分:土壤样品的采集、处理和贮存》(NY/T 1121.1—2006)<sup>[14]</sup>中的样品制备方式,将风干后的土壤平铺在制样板上,用木棍和塑料棒碾压,并将植物残体、石块等侵入体和新生体剔除干净,细小已断的根用静电吸附的方法清除。压碎的土样全部通过2 mm孔径筛,混匀后备用。供试农业土壤有效态成分分析参比标准物质NSA 2[碳酸氢钠浸提有效磷为(36±6) mg/kg]与NSA 4[碳酸氢钠浸提有效磷为(14.5±2.6) mg/kg]由中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所研制;供试土壤有效态成分分析标准物质GBW07414a[ASA-3a,碳酸氢钠浸提有效磷为(29±3) mg/kg]由中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所及农业农村部全国农业技术推广服务中心认定,国家质量监督检验检疫总局批准。

### 1.2 实验试剂

分析用水为新制备的去离子水,电阻率 $\geq 10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ (25℃)。碳酸氢钠、氢氧化钠、硫酸、四水合钼酸铵、半水合酒石酸锑钾、抗坏血酸等试剂均为国药集团化学试剂有限公司生产的分析纯试剂,十二烷基硫酸钠(SDS)为Sigma-Aldrich试剂公司产品,磷标准溶液[GSB 04-1741-2004(a), 1000 mg/L]为国家有色金属及电子材料分析测试中心有证标准样品。

### 1.3 试剂配制

氢氧化钠溶液( $c=2 \text{ mol/L}$ ):称取8.00 g氢氧

化钠溶于水中,定容至100 mL,摇匀,现配现用。

碳酸氢钠浸提剂( $c=0.5 \text{ mol/L}$ ):称取42.0 g分析纯碳酸氢钠溶于900 mL水中,用氢氧化钠溶液调pH到8.5,用水定容至1000 mL,摇匀,可常温保存4周,每次使用前检查溶液的pH。

钼酸铵溶液:称取1.80 g钼酸铵及0.0500 g酒石酸锑钾溶于700 mL水中,加入22.30 mL硫酸,加入2.00 g十二烷基磺酸钠,待试剂完全溶解,用水定容至1000 mL,摇匀,贮存于棕色试剂瓶中,可常温保存4周。

硫酸溶液:量取55.60 mL硫酸至800 mL水中,加入2.00 g十二烷基磺酸钠,至试剂完全溶解,用水定容至1000 mL,摇匀,可常温保存4周。

抗坏血酸溶液:称取1.50 g抗坏血酸用水溶解,定容至100 mL,摇匀,贮存于棕色试剂瓶中,现配现用。

钼酸铵-酒石酸锑钾-十二烷基磺酸钠溶液:称取1.80 g钼酸铵及0.0500 g酒石酸锑钾溶于700 mL水中,加水到1 L,加入2.00 g十二烷基磺酸钠并混合均匀,贮存于棕色试剂瓶中,可常温保存4周。

抗坏血酸-硫酸溶液:量取80.0 mL硫酸缓慢加入到600 mL水中,冷却至室温后再加15.0 g抗坏血酸用水溶解,定容至1000 mL,摇匀,贮存于棕色试剂瓶中,现配现用。

十二烷基磺酸钠溶液:称取2.00 g十二烷基磺酸钠溶于水中,定容至1000 mL,如出现浑浊,用无磷滤纸过滤后使用。

### 1.4 实验仪器

连续流动分析仪(AA3, Seal Analytic, 德国);紫外可见分光光度计(UV2600, Shimadzu, 日本);威立雅实验室超纯水机(PURELAB Classic, ELGA, 英国);电子天平(ME602, Mettler Toledo, 美国);一般实验常用仪器和设备。

### 1.5 实验条件

连续流动分析仪测量条件:清洗比设定为3(进样时间45 s,清洗时间15 s);测样速率为40样次/h,滤光片为660或880 nm。紫外可见分光光度计测量条件:10 mm光程,测定波长880 nm。

### 1.6 实验原理

采用碱性碳酸氢钠浸提剂提取土壤中有效磷,利用空气片段连续流技术,蠕动泵将试样与试剂泵入到一个连续流动的系统均匀混合,通过透液不

透气的渗透膜技术在线去除二氧化碳气体, 而含磷提取液透过渗透膜进入系统后, 在酸性条件下, 以酒石酸锑钾为催化剂, 与钼酸铵及抗坏血酸在线恒温显色反应生成蓝色化合物, 在 660 或 880 nm 波长处产生吸收, 一定浓度范围内, 磷的含量与吸光度值符合朗伯 - 比尔定律。

## 1.7 实验方法

### 1.7.1 样品前处理及数据分析

选取参比土壤 NSA 4 及 S0007 号、S0008 号、S0009 号、S0010 号和 S0012 号样品对浸提振荡方式、振荡频率、时间及温度等实验条件进行探讨。按照标准 NY/T 1121.7—2014 规定对样品进行前处理, 并制备 11 个试剂空白对照。采用 Excel 2016 对检测数据进行统计分析。

### 1.7.2 试样测定

连续流动分析仪法测定: 取标准系列溶液、待测空白液、待测液适量 (>3 mL), 按顺序放入样品盘中, 参照仪器使用说明书, 按照待测方法连接管路和试剂流路, 使待测指标的响应增益值达到分析要求, 编辑测定方法、选择合适的测样速率、清洗比, 待基线稳定后依次测定标准系列溶液、空白液和待测液。分光光度法按照标准 HJ 704—2014 规定进行比色测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 试剂流路的确定

在标准 LY/T 1232—2015 中及张英利等<sup>[12]</sup>提到, 样品先与十二烷基硫酸钠溶液混合后, 透过

渗透膜与钼酸铵 - 酒石酸锑钾 - 十二烷基硫酸钠溶液混合均匀, 与抗坏血酸 - 硫酸溶液混合, 通过 37℃ 恒温模块, 反应生成钼蓝化合物, 再进入流通池, 其具体试剂流路见图 1。在这个反应体系中, 碳酸氢钠浸提液与硫酸溶液反应生成的二氧化碳气体是在渗透膜之后的密闭系统中, 因而无法排出反应系统, 当试样量或试剂酸量增大时, 则进入流通池的气泡会过大或不规则, 导致检测器无法准确测量, 因此, 方法只能通过增大仪器增益、降低精度来提高灵敏度。为了解决检测灵敏度低及碳酸氢钠与硫酸反应生成的二氧化碳气体进入后续反应体系, 实验设计将原流速为 0.32 mL/min 进样管增大为 0.80 mL/min, 在将原方法中仅起润滑作用的十二烷基硫酸钠溶液, 改为加入十二烷基硫酸钠的硫酸溶液, 使浸提液在通过渗透膜前先提供酸环境, 并发生反应生成二氧化碳气体, 二氧化碳气体不能通过渗透膜, 而在酸性环境中的磷酸盐溶液透过渗透膜, 进入流路中, 与改进后的酸性钼酸铵溶液混合生成钼黄化合物, 再与抗坏血酸溶液均匀混合, 经过 37℃ 恒温模块, 使反应在恒温条件下完成后, 再进入流通池后检测。优化后的连续流动分析仪测定有效磷的流路见图 2。当采用相同检测波长, 增益设置为 10, 仪器其他检测参数一致, 按照改进前 (图 1) 和改进后 (图 2) 方法分别检测 50 mg/L 标准溶液, 对应仪器的峰高响应值分别为 36.2% 与 62.0%, 由此说明, 经过重新设计的试剂配制方案与试剂流路可提高该方法的灵敏度。

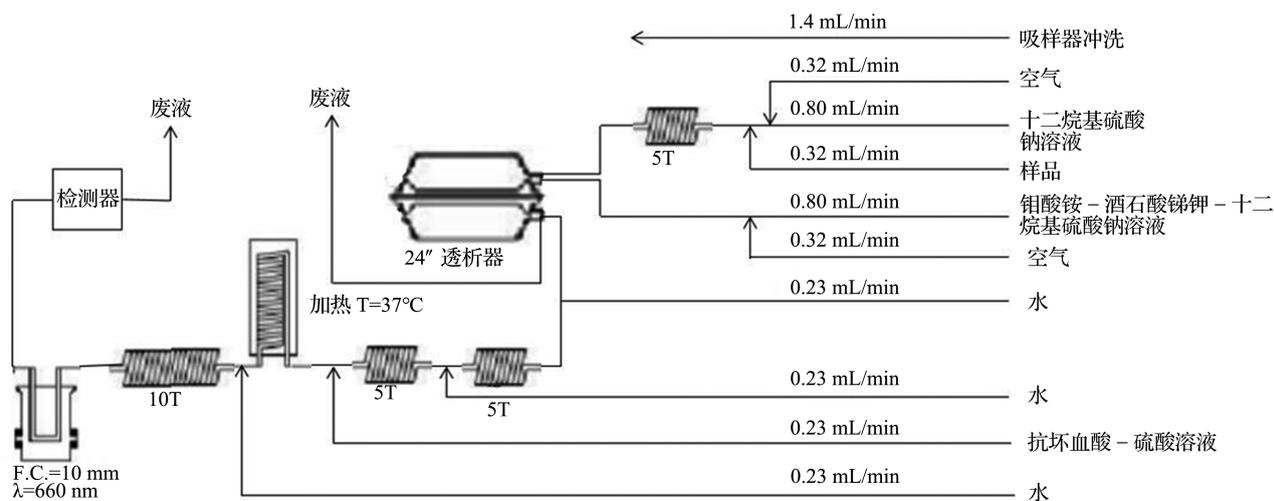


图 1 标准 LY/T 1232—2015 测定土壤中有效磷含量试剂流路

注: F.C.=10 mm 表示检测池光径为 10 mm。图 2 同。

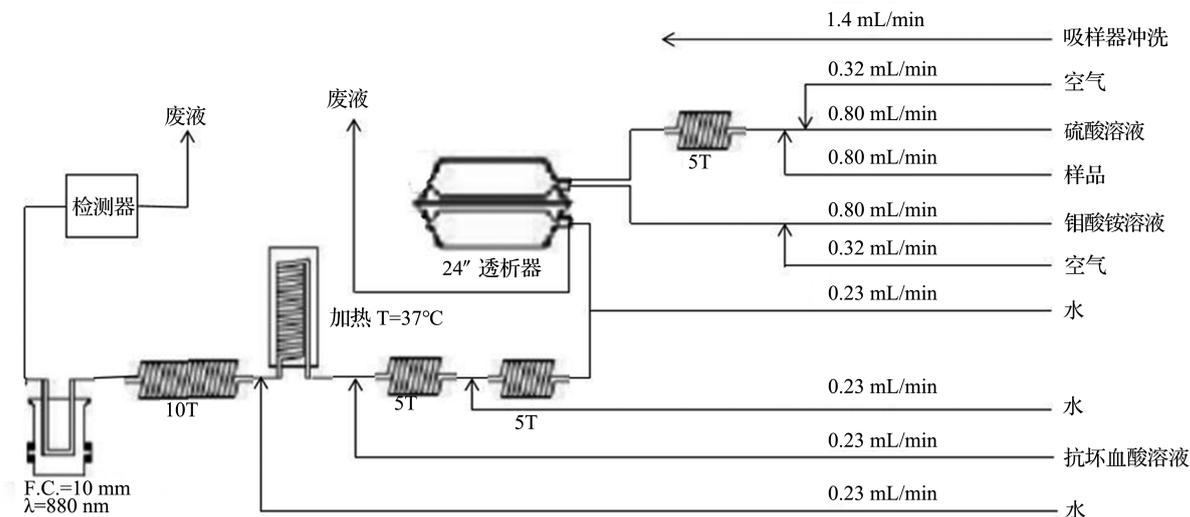


图2 改进后连续流动分析法测定土壤中有效磷含量试剂流路

### 2.2 检测波长的确定

在标准 LY/T 1232—2015 中有效磷的检测波长为 660 nm，而标准 HJ 704—2014 中有效磷检测波长为 880 nm，基于两个标准检测波长不一致的情况，实验采用改进后的方法，将仪器参数调整一致，将检测波长更换为 660 和 880 nm 滤光片，分别检测 5.00 mg/L 的标准溶液，得到的相应峰高响应值分别为 68.9% 和 98.5%。因此，在检测低含量有效磷时，880 nm 作为检测波长可有效提高检测灵敏度。

### 2.3 振荡方式、频率与时间的确定

鉴于目前常用振荡机有往复式振荡和涡旋式振荡，而标准 LY/T 1232—2015、HJ 704—2014 及 NY/T 1121.7—2014 中未规定提取方式，实验比较了在相同条件下（振荡频率为 180 r/min，提取温度为 25 °C，提取时间为 30 min），往复式振荡和涡旋式振荡提取参比土样 NSA 4 与 5 个实际土壤样品（ $n=3$ ）的有效磷含量，发现两种振荡方式的数据无明显差异，参比土壤 NSA 4 的值介于 12.4 ~ 12.9 mg/kg 之间，在认定值  $[(14.5 \pm 2.6) \text{mg/kg}]$  范围内，涡旋式与往复式振荡均可以用于土壤有效磷的提取，结果见图 3。基于标准 LY/T 1232—2015、HJ 704—2014 及 NY/T 1121.7—2014 中规定的振荡速率为 160 ~ 200 r/min 均可，由于一般振荡机为了保护机器寿命，不建议使用 200 r/min 的频率，因此，实验设计了 25 °C 下涡旋式 ① 180 r/min，30 min；② 160 r/min，30 min；③ 180 r/min，45 min，共 3 种条件提取 NSA 4 与 5 个实际土壤样品（ $n=3$ ）的

有效磷含量，发现在浸提频率 160 ~ 180 r/min 区间，提取时间 30 ~ 45 min 内，提取的土壤有效磷结果稳定，参比土壤 NSA 4 的值介于 12.4 ~ 13.8 mg/kg 之间，在认定值  $[(14.5 \pm 2.6) \text{mg/kg}]$  范围内，结果见图 4。

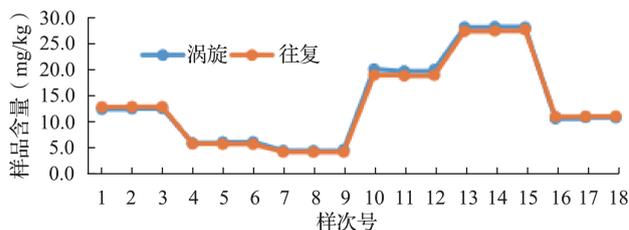


图3 土壤有效磷提取振荡方式的比较

注：样次号 1 ~ 3 为 NSA 4，4 ~ 6 为 s0007，7 ~ 9 为 s0008，10 ~ 12 为 s0009，13 ~ 15 为 s0010，16 ~ 18 为 s0012。下同。

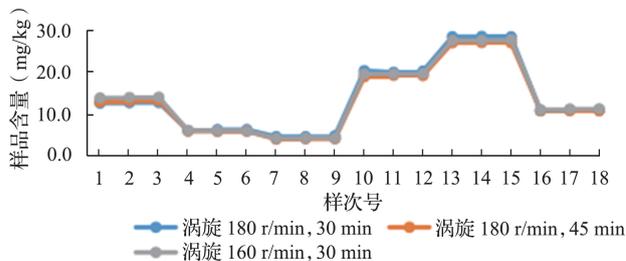


图4 土壤有效磷提取振荡频率与时间的比较

### 2.4 提取温度的确定

土壤有效磷的提取效率与温度有相关性<sup>[15-17]</sup>，在标准 HJ 704—2014 与 NY/T 1121.7—2014 中要求提取温度控制为  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ，标准 NY/T 1232—2015 规定在 20 ~ 25 °C 的条件下提取有效磷，但在冬天与夏天进行有效磷检测实验时，室温温差

变化很大,为了确认提取有效磷的温度有效范围,比较了NSA 4与5个实际土壤样品( $n=3$ )在10、20、25与30℃的环境中提取有效磷的差异,有效磷的提取效率与温度有正相关性,确认温度在20~25℃区间提取效率稳定,参比土壤NSA 4的值介于12.4~13.9 mg/kg,在认定值 $[(14.5 \pm 2.6) \text{ mg/kg}]$ 范围内,结果见图5。

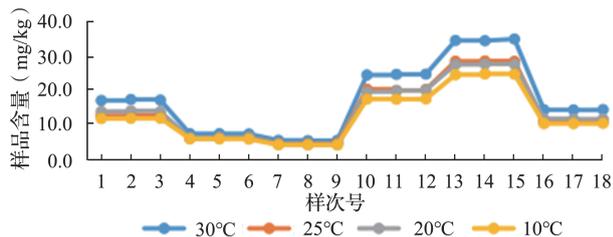


图5 土壤有效磷浸提温度的比较

表1 标准HJ 704—2014分光光度法、LY/T 1232—2015改进前与改进后方法的工作曲线及检出限

方法	检测方式	线性范围	增益	线性方程	$R^2$	方法检出限 (mg/kg)
HJ 704—2014 分光光度法	手动	0 ~ 0.800	—	$y=0.7263x-0.0003$	1	0.10
LY/T 1232—2015 优化前	自动	0 ~ 10.0	110	$y=0.9999x+0.0004$	1	0.48
LY/T 1232—2015 优化后	自动	0 ~ 3.00	80	$y=0.9998x+0.0002$	1	0.08

表2 方法改进后仪器精密度

浓度 (mg/L)	检测值 (mg/L)	平均值 (mg/L)	标准偏差 (mg/L)	变异系数 (%)
0.500	0.494, 0.495, 0.491, 0.493, 0.491, 0.493, 0.493	0.493	0.001	0.3
1.00	1.03, 1.03, 1.02, 0.977, 1.02, 1.02, 1.02	1.02	0.019	1.8

表3 改进后方法精密度

样品编号	含量 (mg/kg)	平均值 (mg/kg)	标准偏差 (mg/kg)	变异系数 (%)
S0001	20.6, 19.7, 20.5	20.3	0.47	2.3
S0002	16.2, 16.7, 16.9	16.6	0.36	2.2
S0003	9.37, 9.59, 9.41	9.45	0.12	1.2
S0004	2.29, 2.21, 2.11	2.20	0.09	4.1
S0005	6.95, 6.69, 6.47	6.70	0.24	3.6
S0006	7.67, 7.69, 7.97	7.77	0.17	2.2
S0007	5.89, 6.07, 6.09	6.01	0.11	1.8
S0008	4.41, 4.39, 4.61	4.47	0.12	2.7
S0009	20.1, 19.7, 20.0	20.0	0.20	1.0
S0010	28.2, 28.3, 28.2	28.2	0.05	0.2
S0011	13.1, 12.7, 12.6	12.8	0.28	2.2
S0012	10.6, 10.8, 10.8	10.7	0.12	1.2
S0013	20.1, 20.9, 20.6	20.5	0.41	2.0
S0014	26.7, 26.5, 27.0	26.7	0.27	0.3
S0015	26.6, 26.6, 27.5	26.9	0.55	1.0
S0016	40.7, 40.1, 41.1	40.6	0.53	1.3

## 2.5 方法标准曲线及检出限

按照仪器测定方法分取总磷标准溶液 [GSB 04-1741-2004 (a)] 制备标准系列溶液;以11次空白结果的3倍标准偏差为检出限。标准HJ 704—2014分光光度法、LY/T 1232—2015与优化后方法的工作曲线及检出限见表1。

## 2.6 优化后方法精密度

按照优化后试剂方案配制试剂,图2连接试剂管路,利用连续流动分析仪检测浓度为0.500、1.00 mg/L的标准溶液各7次,计算相对标准偏差作为仪器精密度,结果见表2;对16个在湖南采集的土壤样品进行检测,每个样品做3个重复,以检测结果的相对标准偏差作为优化后方法的精密度,结果见表3。由表2和表3结果可知,仪器精密度 $<2\%$ ,方法精密度 $<5\%$ 。

2.7 优化后方法的准确度

2.7.1 参比物质及标准物质验证

按照优化后试剂方案配制试剂, 图 2 连接试剂管路, 利用连续流动分析仪检测农业土壤有效态成分分析参比标准物质 NSA 2、NSA 4 与土壤有效态成分分析标准物质 GBW07414a, 结果均在标准物质认定值不确定度范围内, 说明优化后的方法检测结果准确可靠, 检测结果见表 4。

表 4 改进后方法参比物质与标准物质验证检测结果

编号	含量 (mg/kg)	含量平均值 (mg/kg)	认定值 (mg/kg)	判定
NSA 2	35.1, 36.4, 36.3	35.9	36 ± 6	符合
NSA 4	12.4, 12.5, 12.6	12.5	14.5 ± 2.6	符合
ASA-3a	28.4, 27.8, 28.3	28.1	29 ± 3	符合

2.7.2 优化前、改进后方法与紫外可见分光光度法的比较

设定摇床参数 T=22℃、r=180 r/min、t=30 min, 对 NSA 2、NSA 4、GBW07414a (ASA-3a)、S0001 ~ S0016 土壤进行样品制备, 每个土壤制备 3 份独立试样, 并做试剂空白。浸提液按照标准 HJ 704—

2014 分光光度法、LY/T 1232—2015 与优化后方法进行检测, 计算试样中有效磷含量, 采用 Excel 2016 分析分光光度法和连续流动分析仪优化前及优化后检测结果的绝对误差 (|连续流动分析仪检测结果 - 分光光度计检测结果|) 和相对误差 (绝对误差 / 分光光度计检测结果 × 100%) 来衡量连续流动分析仪的准确度, LY/T 1232—2015 法与 HJ 704—2014 法比较, 绝对误差范围在 0.10 ~ 2.62 mg/kg, 相对误差介于 0.4% ~ 41.7%; 优化后 LY/T 1232—2015 法与 HJ 704—2014 法比较, 绝对误差范围在 0.01 ~ 0.96 mg/kg, 相对误差介于 0% ~ 7.9%, 采用检验分析改进前连续流动分析仪法和分光光度法测量 19 个试样样品的结果, P=0.000011<0.05; 而改进后连续流动分析仪法和分光光度法测量 19 个试样样品的结果, P=0.16>0.05; 说明改进后的连续流动分析仪法检测有效磷的准确度和灵敏度得到了提高, 改进后连续流动分析仪法与分光光度法测定结果无显著差异, 改进后的连续流动分析仪法用于分析碳酸氢钠浸提的有效磷含量是可行的, 并能够满足土壤中有效磷含量检测的质量要求。结果见表 5。

表 5 连续流动分析仪与紫外可见分光光度计测定土壤中有效磷含量结果比对

编号	连续流动分析仪		分光光度计	分光光度法与优化后比较		分光光度法与优化前比较	
	优化前	优化后		绝对误差 (mg/kg)	相对误差 (%)	绝对误差 (mg/kg)	相对误差 (%)
NSA4	13.4	12.5	12.8	0.33	2.6	0.57	4.5
NSA2	36.0	35.9	35.0	0.96	2.7	1.05	3.0
ASA-3a	30.4	28.1	27.8	0.37	1.3	2.62	9.4
s0001	20.6	20.3	20.1	0.15	0.7	0.44	2.2
s0002	17.7	16.6	16.8	0.21	1.2	0.85	5.1
s0003	10.2	9.45	9.29	0.16	1.7	0.91	9.8
s0004	3.00	2.20	2.34	0.14	6.0	0.66	28.2
s0005	8.56	6.70	7.12	0.42	5.9	1.44	20.2
s0006	10.0	7.77	8.44	0.67	7.9	1.59	18.9
s0007	7.87	6.01	6.36	0.35	5.5	1.51	23.7
s0008	6.42	4.47	4.53	0.06	1.4	1.89	41.7
s0009	21.2	20.0	20.7	0.69	3.3	0.54	2.6
s0010	29.1	28.2	28.7	0.46	1.6	0.43	1.5
s0011	13.8	12.8	12.8	0.03	0.2	0.99	7.7
s0012	11.7	10.7	11.4	0.63	5.6	0.35	3.1
s0013	21.2	20.5	20.7	0.15	0.7	0.49	2.4
s0014	27.0	26.7	26.6	0.15	0.6	0.41	1.6
s0015	27.0	26.9	26.9	0.01	0.0	0.10	0.4
s0016	41.1	40.6	40.9	0.25	0.6	0.25	0.6

### 3 讨论

#### 3.1 两种仪器实验结果比较

HJ 704—2014 与 LY/T 1232—2015 分别规定分光光度计与连续流动分析仪对土壤有效磷进行检测, 两种仪器检测原理相同, 均是钼蓝显色。分光光度法检测需要人工分样、显色、逐个检测, 日均测样速率约为 60 样次; 连续流动分析仪法检测实现自动化进样、在线检测, 无须人工值守, 日均测样速率 300 样次, 极大提高了检测效率, 实用性强。

由表 5 结果可看出, 当土壤有效磷含量  $>10$  mg/kg 时, 连续流动分析仪法与分光光度法的相对误差均  $<10\%$ ; 土壤有效磷含量  $<10$  mg/kg, HJ 704—2014 与 LY/T 1232—2015 两种方法检测结果相对误差较大, 个别样品甚至达到 40%。这是由于原设计反应体系, 碳酸氢钠浸提液与硫酸溶液反应生成的二氧化碳气体是在渗透膜之后的密闭系统中, 生成的气体一直存在于反应体系中, 易造成基线抖动, 为了满足仪器稳定性, 进样量要少, 但为了满足仪器性能, 需提高进样浓度。本实验利用连续流动分析仪液渗透膜在线消除气泡技术, 通过对试剂流路、试剂配制及进样量的优化, 实现了当土壤有效磷含量  $<10$  mg/kg, 其检测值与分光光度法比较相对误差均  $<10\%$ 。由表 1 可知, 经本实验优化后的方法检出限为 0.08 mg/kg, 灵敏度得到了提高。由表 2 ~ 4 可知, 优化后方法精密度 ( $RSD < 5\%$ ) 与准确度良好。由表 5 可知, 优化后连续流动分析仪法与分光光度法测量结果无显著差异, 优化后连续流动分析仪法应用于土壤有效磷含量的测定是可行的, 结果准确可靠。

#### 3.2 连续流动分析仪检测土壤有效磷含量的注意事项

在使用连续流动分析仪测定有效磷时, 通过仪器渗透系统在线去除二氧化碳气泡, 容易在渗透膜上形成盐析, 缩短渗透膜使用寿命。建议在检测序列运行完毕后, 采用去离子水清洗系统 30 min 以上。而在使用连续流动分析仪时, 试剂流路管道长, 存在流体阻力, 特别是在线反应去除气泡时, 会造成仪器基线抖动, 使测定结果受到影响, 因此配制试剂时, 酸溶液和钼酸铵溶液的润滑剂一定要加足量, 且使用期间澄清透亮, 以保证仪器管路顺滑、基线平稳, 检测数据结果准确<sup>[18]</sup>。在编

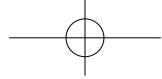
辑运行文件时, 要选择合适清洗比, 使仪器带过 (Carryover)  $<2\%$ , 以避免样品间相互干扰; 每 10 样次插入一个基线校正, 每 20 样次插入一个漂移杯, 以校正测量过程中仪器与试剂的漂移变化<sup>[19]</sup>。在样品测试期间, 需采用碳酸氢钠浸提剂配制标准溶液, 以确保标准曲线与样品显色条件一致, 使测量结果更加准确可靠。

### 4 结论

研究表明, 优化后的连续流动分析仪法测定土壤有效磷含量的线性良好 (线性范围 0 ~ 3.0 mg/L, 相关系数  $R^2 > 0.999$ , 检出限为 0.004 mg/L, 变异系数  $<5\%$ , 采用  $t$  检验分析连续流动分析仪法和分光光度法测量 19 个试样样品的结果, 优化后连续流动分析仪法与分光光度法测量结果无显著差异, 优化后连续流动分析仪法应用于土壤有效磷含量的测定是可行的, 结果准确可靠。连续流动分析仪测定土壤中有效磷含量的方法具有自动化程度高、分析速度快、显色条件稳定、操作简便、精密度高、准确可靠、试剂消耗量少及对环境友好等特点, 可快速准确检测碳酸氢钠浸提的有效磷含量, 特别是对土壤微生物量的检测有重大的实际应用意义, 也可为第三次全国土壤普查高效准确测量碳酸氢钠浸提有效磷含量提供技术依据。

#### 参考文献:

- [1] 环境保护部. HJ 704—2014 土壤有效磷的测定 碳酸氢钠浸提-钼锑抗分光光度法 [S].
- [2] 于汀汀, 朱云, 郭琳. 溴酚蓝作酸碱指示剂分光光度法测定土壤有效磷 [J]. 岩矿测试, 2023, 42 (1): 213-219.
- [3] 任奕蒙. 利用钒钼酸铵比色法测定土壤有效磷含量 [J]. 山西化工, 2022, 42 (5): 45-46.
- [4] 张剑, 章明奎. 区域农田土壤有效磷的异质特性及其成因 [J]. 农学学报, 2022, 12 (8): 43-47.
- [5] LY/T 1232—2015, 森林土壤磷的测定 [S].
- [6] NY/T 1121.7—2014, 土壤检测 第 7 部分: 土壤有效磷的测定 [S].
- [7] 周冬梅, 梁攀, 姜颖, 等. 酸性土壤中有效磷测定方法改进 [J]. 磷肥与复肥, 2021, 36 (7): 43-45.
- [8] 王献华, 谢如林, 周柳强, 等. Olsen 法测定的土壤速效磷含量与土壤 pH 值的相关性研究 [J]. 广西农业科学, 2008 (2): 199-201.
- [9] 李爱华, 刘春哲, 陈能荣. 应用连续流动分析仪浸提温度对土壤有效磷测值的影响 [J]. 吉林农业科学, 1987 (3): 79-82.
- [10] 李爱华. 用连续流动分析仪测定土壤有效磷时酸度条件的研



- 究 [J]. 土壤, 1987 (6): 324-327.
- [11] 徐纪明, 吕婷婷, 毛传澡. 运用 SAN<sup>++</sup> 型连续流动分析仪测定水稻无机磷含量 [J]. 分析仪器, 2018 (3): 46-50.
- [12] 张英利, 许安民, 尚浩博, 等. 连续流动分析仪测定土壤硝态氮和有效磷的试验及改进 [J]. 中国土壤与肥料, 2008 (2): 77-80.
- [13] 李小涵, 王朝辉, 李生秀. 连续流动分析仪测定石灰性土壤速效磷条件的确定 [J]. 分析仪器, 2012 (6): 101-103.
- [14] NY/T 1121.1—2006, 土壤检测 第1部分: 土壤样品的采集、处理和贮存 [S].
- [15] 张海欧, 李娟. Olsen 法在不同温度下对碱性土壤有效磷测定的影响 [J]. 西部大开发 (土地开发工程研究), 2018, 3 (4): 65-68.
- [16] 夏晓燕, 邵赛男, 蒋玉根, 等. 酸性土壤有效磷测定中的温度控制技术探讨 [J]. 浙江农业科学, 2021, 62 (3): 598-599, 607.
- [17] 李新梅. 浸提温度、时间对测定土壤有效磷的影响 [J]. 绿色科技, 2014 (12): 169-170.
- [18] 葛磊. 连续流动分析仪测水质总磷、总氮注意事项及质量控制 [J]. 价值工程, 2017, 36 (35): 133-134.
- [19] 张丽萍, 王久荣, 许丽卫, 等. 连续流动分析仪测定饲料中的总磷含量 [J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56 (8): 195-198.

#### Optimization on the method of sodium bicarbonate extraction of soil available phosphorus determined by continuous flow analyzer

TANG Si-yu, ZHANG Li-ping\*, WANG Jiu-rong, YUAN Hong-chao, HE Zhen, GENG Mei-mei, CHEN Wen (Key Laboratory of Subtropical Agriculture, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha Hunan 410125)

**Abstract:** In order to improve the detection sensitivity and efficiency of soil available phosphorus, the detection methods for extraction of available phosphorus by sodium bicarbonate in HJ 704—2014 *Determination of soil available Phosphorus by sodium bicarbonate leaching-molybdenum antimony resistance spectrophotometry* and LY/T 1232—2015 *Determination of Forest soil* were optimized. By designing the reagent preparation scheme and reagent flow path of continuous flow analyzer, the extraction method, oscillation velocity, temperature, time and detection wavelength on the test results were studied, the linear range, detection limit, precision and accuracy of the method were investigated, and the detection results of spectrophotometer method and continuous flow analyzer method were compared. The results showed that at 880 nm wavelength, the linear range of effective phosphorus extracted by sodium bicarbonate leaching was 0-3.00 mg/L, the correlation coefficient  $R^2 > 0.999$ , the detection limit was 0.004 mg/L, and the coefficient of variation was  $< 5.0\%$ . The reference substance NSA 2 [ validated effective P ( 36 ± 6 ) mg/kg ], NSA 4 [ validated effective P ( 14.5 ± 2.6 ) mg/kg ] and standard substance ASA-3a [ validated effective P ( 29 ± 3 ) mg/kg ] were measured as 35.9, 12.5 and 28.1 mg/kg. The optimized continuous flow analyzer method for the detection of available phosphorus content in sodium bicarbonate leaching soil had the advantages of automatic sampling, online bubble removal, online constant temperature color detection, less reagent consumption and environmental friendliness. Besides, the experiment period was short, and the measured data were of good sensitivity, precision and accuracy, showing outstanding advantages. It could provide technical basis for the effective phosphorus content of sodium bicarbonate leaching in the third national soil survey.

**Key words:** soil; sodium bicarbonate leaching; available phosphorus; UV spectrophotometry; continuous flow analyzer