

自动分析仪测定土壤全磷的方法探讨

张英利¹, 许安民¹, 杨玉秀², 张红¹

(1. 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西安植物园, 陕西 西安 710061)

摘要: 对 AA³ 型连续流动分析仪测定土壤全磷的方法进行了试验研究。结果表明, 通过调整试剂中的硫酸量使显色酸度在反应的适宜范围, 该仪器能准确测定土壤样品中的全磷, 与传统比色法的测定结果无显著差异, 在线性区间, 标准曲线 *r* 值可达到 0.999 以上, 加标回收率为 97.9%~102.1%, 待测溶液最低检出限为 0.012 mg/L。

关键词: 连续流动分析仪; 土壤全磷; 水溶性磷; 反应酸度

中图分类号: S 153.6⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2007) 01-0168-04

土壤中的全磷包括有机磷和无机磷两大类^[1], 因此, 测定土壤全磷, 第一步是样品的分解——无机磷全部溶解, 有机磷氧化成无机磷; 第二步是待测溶液中磷的测定, 传统方法一般用磷钼蓝比色法^[1], 这种方法因显色稳定、受干扰离子影响较小而被广泛应用, 但操作手续相对烦琐, 消耗人力、物力较多, 尤其是在大批量分析时, 而且人为误差也较大。

连续流动分析仪(Continuous flow analytical system, CFA) 是将复杂的手工操作简化成仪器自动化操作, 不仅分析速度快, 降低试剂、器皿、水、电等消耗, 且准确度高, 对环境污染小, 自动化操作也减少了人为误差。

目前, 用 AA³ 型连续流动分析仪测定地表水中的水溶性磷、硝酸盐、亚硝酸盐等已有报道^[2,3], 但用其测定土壤全磷的报道还尚未见到。为扩大仪器功能, 对科研及生产中测试提供依据, 本试验对此做了实验研究。

1 材料与方 法

1.1 仪器测定原理

AA³ 型连续流动分析仪测定磷的原理也基于磷钼蓝比色, 分析流程: 标准溶液和样品通过采样器被蠕动泵吸出流过整个系统, 同时, 泵还连续不断地输送分析所需要的钼酸铵、抗坏血酸等试剂, 样品和试剂在一个连续流动的系统 中混合均匀。每个样品被吸入的空气气泡均匀地分割, 在同样条件下(时间、流动速度、温度、清洗比等), 每个片段在混合圈中充分混合并发生反应, 生成磷钼蓝, 再经过检测器比色, 最后将比色信号输入电脑, 软件进行数据处理并生成报告。

磷钼蓝显色的适宜酸度为 0.35~0.55 mol/L (1/2H₂SO₄), 过酸或不足均会影响结果^[1]。

用 AA³ 型连续流动分析仪测定全磷, 仪器制造商提供的现成方法, 仅是水样中全磷的测定(见仪器使用方法—Auto analyzer application)。因此, 要将其用于土壤全磷的测定, 还要进行试验和改进。因为土壤样品的前处理与水样不同, 所以, 不能照搬水样全磷的测定方法, 要调整反应混合液酸度使其在显色的适宜范围。

1.2 仪器

AA³ 型连续流动分析仪, 德国布郎—卢比公司生产, 配置 MT7、MT8 两个化学模块, 双通道, AACE 操作软件。本试验采用 MT8 模块, 其 P 测定范围为 0~7.5 mg/L。图 1 为 MT8 模块测定全磷的分析流程示意图。

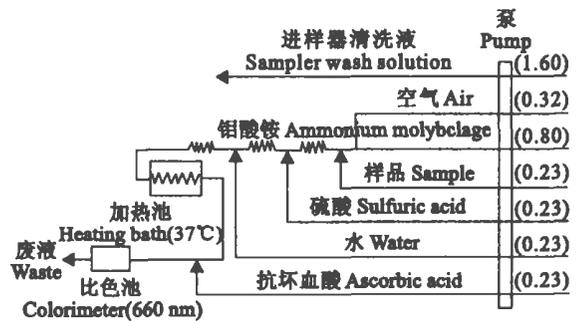


图 1 MT8 模块全磷的分析流程示意图
(括弧内数字是流速, mL/min)

Fig. 1 Flow scheme of determination of total phosphorus
(The figure in parent hesis are flow rate, mL/min)

1.3 试剂

(1) 钼酸铵。称取 1.8g 钼酸铵、0.05g 酒石酸

收稿日期: 2006-08-08

基金项目: 国家自然科学基金重点项目“西北旱地作物高产优质高效栽培生理生态研究”(30230230)

作者简介: 张英利(1956—), 女, 陕西临潼人, 高级实验师, 主要从事土壤与植物营养研究。

钾溶于约 700 mL 水中,定容至 1L,再加入 2g SDS (十二烷基硫酸钠),混匀,保存在棕色瓶中。

(2) 抗坏血酸,称取 1.5 g 抗坏血酸溶于 100 mL 水中,保存在棕色瓶中。此试剂可稳定一周。

(3) 硫酸,硫酸体积分数 2.7%,即硫酸浓度为 0.97 mol/L ($1/2\text{H}_2\text{SO}_4$)。

(4) 吸样器冲洗液,与待测液硫酸体积分数相同的溶液,本试验硫酸体积分数 5%。

(5) 系统冲洗液,2g SDS 溶于 1L 水中。

以上试剂均为分析纯,实验用水为去离子水。

1.4 测定参数

进样速率:50 个/h,清洗比率:3:1,滤光片波长:660 nm,平滑度:16,主峰高度:85%。

1.5 测定步骤

连接好管路,启动仪器,先运行基线,再检查试剂吸收,然后用标准曲线最高浓度调节增益,之后开始运行,最后打印自动生成的报告单。

1.6 实验方法

1.6.1 前处理方法 土壤样品用高氯酸-硫酸消解^[1]。

1.6.2 待测液制备 样品分别采自杨凌地区的蔬菜大棚温室和农田。

称样 0.25~0.50 g 于 100 mL 刻度消煮管中,加 5 mL 浓硫酸、10 滴高氯酸,在消煮炉中消解后冷却,定容,此溶液做为待测溶液,含硫酸体积分数 5%(消解过程硫酸损失忽略),即 1.8 mol/L ($1/2 \text{H}_2\text{SO}_4$)。

同时按样品步骤消解 4 份空白,分别定容到 50 mL,混匀,硫酸体积分数为 10%(为便于做标准曲线)。

标准系列配制:50 mL 量瓶中加入 25 mL 以上空白溶液,再分别加入 50 mg/L P 标准液,定容,P 浓度分别为 0,1,2,3,4,5,6 mg/L,硫酸体积分数为 5%。

1.6.3 酸度调节 按图 1 所示,分别将试剂管道插入相应试剂中,图中吸硫酸溶液的泵管在测定水溶性磷时是吸水的,本实验测土壤全磷时之所以要改为吸入硫酸溶液,原因是测定水溶性磷时,钼酸铵溶液中加入了一定量的硫酸(每升加 22.3 mL)以达到显色反应的酸度。根据各泵管的流速,计算得出显色酸度为 0.37 mol/L ($1/2\text{H}_2\text{SO}_4$)。但测定土壤全磷时,因为待测液中已含有硫酸,故为了保持反应酸度,应减少钼酸铵中的硫酸量(计算得每升加 7.7 mL)。经过笔者实验,若按照仪器制造商提供的方法配制测定水样中磷酸盐使用的钼酸铵,每升加

22.3 mL 硫酸及上述几种试剂(见 1.3),配好的钼酸铵是正常的无色溶液。而当给每升钼酸铵中加入 7.7 mL 硫酸时,配好的钼酸铵溶液很快就呈现蓝色。又改用电热蒸馏水器制备的不含硅的蒸馏水^[4]配制,依然出现蓝色,说明并不是硅的影响,其原因有待进一步研究。

所以,为避免这一现象,测定全磷时,配制钼酸铵试剂不加硫酸(与测定石灰性土壤速效磷的相同),将硫酸单独配成一定浓度的溶液经另一泵管吸入。确定此溶液浓度的方法是先根据待测液中硫酸浓度和吸样泵管的速率(0.23 mL/min),计算反应酸度达到 0.37 mol/L ($1/2\text{H}_2\text{SO}_4$)时,还需要补充加入的硫酸量,再依据吸取此硫酸的泵管流速(0.23 mL/min),计算出硫酸的浓度。经计算,当待测液硫酸体积分数为 5%时,配 0.97 mol/L ($1/2\text{H}_2\text{SO}_4$) 硫酸溶液,可保持系统中反应酸度基本为 0.37 mol/L ($1/2\text{H}_2\text{SO}_4$)。进样器清洗液为体积分数 5%的硫酸。

测定中若样品超标,可用吸样器清洗液稀释,以保持待测液硫酸体积分数为 5%,再将稀释液补加到后面重新进行测定。若大部分样品待测液超过测定范围(7.5 mg/L),可将其稀释并配制与稀释后的酸度相匹配的标准系列、硫酸及进样器清洗液,硫酸浓度的计算方法同上。但要注意稀释后的待测液硫酸体积分数不能低于 2%,因为经实验,若低于此值,在样品与硫酸混合之前(见图 1),会因酸度较低而产生硅钼酸,进而被抗坏血酸还原成硅钼蓝使测定值偏高。

2 结果与分析

2.1 测定的标准曲线

上述标准系列,经仪器运行后,用仪器响应值(峰高度%)与磷浓度的关系做图,见图 2。

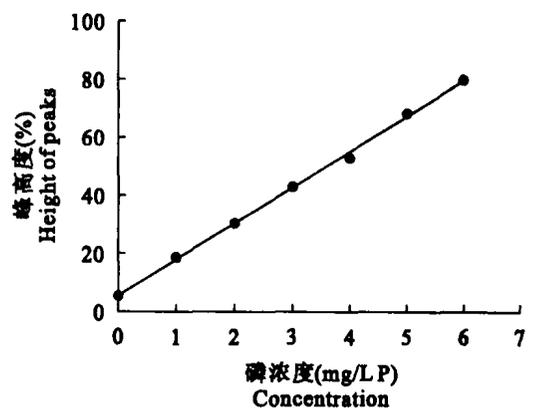


图 2 测定土壤全磷的标准曲线

Fig. 2. The standard curves for measurement of soil total phosphorus

实验结果表明,溶液浓度与仪器响应值在 0~6 mg/L 呈很好的线性关系,拟合的标准曲线方程为:

$$y = 12.368x + 5.49 \quad (r = 0.9993)$$

式中, y 为峰高度(%), x 为磷浓度(mg/L·P)。

2.2 准确度与精密度

采用标准加入校验法做回收率试验,对 4 个土样待测液在不同时间、不同批次试剂的情况下运行 4 次做重复性试验,结果见表 1、表 2。

表 1 CFA 测定土壤全磷的回收率实验结果 ($n=6$)

Table 1 Results of recovery percentage test in determining soil total phosphorus by CFA

编号 No.	样品含 P 量 Sample P concentration (mg/L)	加标量 Amount added (mg/L)	测得总量 Total amount recovered (mg/L)	平均值 Mean (mg/L)	标准差 SD	相对标准偏差 RSD (%)	回收率 Recovery (%)
1	3.80	2.00	5.77, 5.81, 5.84, 5.76, 5.75, 5.78	5.79	0.034	0.57	99.8
2	2.45	1.50	3.90, 3.98, 3.81, 4.01, 4.00, 4.05	3.96	0.087	1.47	100.3
3	1.63	4.00	5.60, 5.61, 5.84, 5.86, 5.73, 5.86	5.75	0.122	2.04	102.1
4	2.30	3.00	5.20, 5.17, 5.15, 5.19, 5.15, 5.28	5.19	0.049	0.81	97.9

表 2 CFA 测定土壤全磷重复性试验结果

Table 2 Results of replication test in determining soil total phosphorus by CFA

样品号 Sample No.	不同时间测定值 Values measured in different time interval (mg/L)	平均值 Mean (mg/L)	相对标准偏差 RSD (%)
1	4.28, 4.09, 3.99, 4.08	4.11	3.05
2	4.44, 4.49, 4.38, 4.50	4.45	1.35
3	5.08, 4.79, 4.82, 4.83	4.88	3.30
4	1.26, 1.20, 1.23, 1.25	1.24	0.66

表 3 传统比色法与 CFA 测定全磷含量差异比较 (g/kg)

Table 3 The comparison of traditional colorimetry and CFA in determining total phosphorus content

测定方法 Method	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
传统比色法 Traditional	1.50	2.37	0.60	0.54	0.62	0.47	2.07	1.14	2.23	1.20	1.40	1.18	1.45	1.59	1.50
连续流动分析仪 CFA	1.47	2.37	0.57	0.61	0.59	0.45	2.05	1.17	2.13	1.24	1.32	1.21	1.39	1.62	1.47

注:表中数据为两次测定平均值。Note: The data in the table was average of two replication.

由表 3 看出,两种方法测定结果基本相同,除 9、11 号 2 个样品外,其余 13 个样品相差基本在 0.05% 以下,在常规比色法测定全磷的允许误差范围内(0.05%)^[5,9]。

对表 3 的结果进行配对法 t 检验,差数平均 $\bar{d} = 0.0133$, 差数平均数标准差 $S_{\bar{d}} = 0.0120$, $t = 1.11$ 。查 t 表,自由度 $df = 14$, $t_{0.05} = 2.14$, $t_{0.01} = 2.98$, 故认为两种方法无显著差异。

2.4 检出限测定

根据美国环保协会(EPA)检出限测定方法,用

表 1、表 2 表明,磷的回收率达到 97.9%~102.1%,相对标准偏差小于 2.04%;4 次运行结果重复性良好,相对标准偏差在 3.30% 以下。说明该方法具有较高的准确度和精密度。

2.3 两种方法比较

对于同一批土壤消解液,分别用传统比色法^[1]、CFA 方法测定其磷含量,结果见表 3。

标准曲线最高浓度 2% 的样品进行 10~20 次重复测定,计算检出限: $MLD = 2.821 \times SD$, 式中 MLD 代表检出限, SD 代表样品测定值标准差^[7]。本试验是将一个浓度为 1.2 mg/L P 的全磷待测溶液,用空白(含硫酸体积分数 5%)稀释 10 倍,重复测定 14 次,结果见表 4。

由表 4 看出,该方法测定上述消解液的检出限为 0.012 mg/L, 故可认为用连续流动分析仪测定土壤全磷具有较高的灵敏度。

表4 CFA 测定土壤全磷的最低检出限测定

Table 4 Measurement for the lowest detection limit in determining soil total phosphorus by CFA

测定值 (mg/L) Values measured							平均值 (mg/L) Mean	标准差 SD	检出限 (mg/L) Detection limit
0.125,	0.119,	0.130,	0.128,	0.128,	0.130,	0.123,	0.128	0.0043	0.012
0.128,	0.125,	0.130,	0.132,	0.135,	0.134,	0.129			

3 结论

1) AA³型连续流动分析仪测定土壤全磷具有速度快、消耗少、准确度和精密度高等优点,能够大批量分析土壤样品。该法回收率为97.9%~102.1%,待测溶液检出限为0.012 mg/L。在0~6 mg/L P的线性范围,标准曲线 r 值可达到0.999以上。

2) 为保持反应酸度在适宜范围,又避免钼酸铵试剂中加入少量硫酸后出现蓝色,在配钼酸铵时不加硫酸,可将硫酸单独配成一定浓度的水溶液,经吸样管后面的泵管吸入系统管道即可。

3) 根据待测液中硫酸浓度及泵管的流速,计算达到反应适宜酸度时需要补充吸入的硫酸浓度。

4) 对在酸度较低时钼酸铵溶液出现蓝色的现象有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 鲍士旦.土壤农化分析(第三版)[M].北京:中国农业出版社,2000.71-76,268-270.
- [2] 袁斌伟,施新锋,周怡.AA³自动分析仪测定地表水中的NO₂-N、NO₃-N+NO₂-N、NO₃-N、PO₄³⁻[J].污染防治技术,2005,18(4):56-58.
- [3] 张辉,梁高亮,罗利红,等.连续流动分析仪测定环境水样中的硝酸盐[J].环境检测管理技术,2003,15(1):36-37.
- [4] 张英利,安战士.硫酸钼锑抗溶液配法的改进探讨[J].土壤通报,1996,27(2):93-94.
- [5] 中国土壤学会农业化学专业委员会.土壤农业化学常规分析方法[M].北京:北京科学出版社,1983.97.
- [6] 中国科学院南京土壤研究所.土壤理化分析[M].上海:上海科学技术出版社,1978.553.
- [7] 汪言满,李坤平,叶树才.连续流动分析仪测定水体中挥发酚的研究[J].工业水处理,2005,25(1):49-51.

Determination of soil total phosphorus by autoanalyzer

ZHANG Yingli¹, XU Anmin¹, YANG Yuxiu², ZHANG Hong¹

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Xi'an Botanical Garden, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

Abstract: Determination method of soil total phosphorus by AA³ Continuous Flow Analytical System was investigated. The results showed that through sucking certain concentration sulfuric acid to the machine with another pump, instead of directly adding sulfuric acid to ammonium molybdate in order to moderate the pH of reaction solution, AA³CFA can be used to assay soil total phosphorus accurately, and avoid the blue reaction after adding a little of sulfuric acid to the ammonium molybdate. The result of this method was not significantly different from the traditional colorimetry. In the linear area, the correlation efficiency for the standard curve was as high as over 0.999, the recovery percentage of standard sample was 97.9%~102.1%, and the detection limit of the sample was 0.012 mg/L.

Key words: Continuous Flow Analytical System(CFA); soil total phosphorus; soluble phosphorus; reaction acidity