

甲亚胺 - 分光光度法测定土壤有效硼前处理优化与对比

杨德容

成都市华测检测技术有限公司, 中国·四川 成都 610041

摘要: 目前土壤有效硼的测定方法主要为分光光度法, 但传统的煮沸法耗时长、操作烦琐、实验耗材量大, 测定结果极易受到分析环境的影响, 对实验人员专业能力要求较高, 分析结果不稳定。鉴于此, 对沸水浴浸提-甲亚胺-H 分光光度法的前处理中沸水浸提时间及离心冷却时间进行实验分析, 探讨最佳处理条件。对标准物质和实际样品进行实验, 标准物质有效硼测定结果与标准值相差无几, 相对标准偏差均小于等于 3.2%; 实际样品有效硼测定结果重复性好, 相对标准偏差均小于等于 5.0%。

关键词: 土壤有效硼; 前处理; 水浴浸提; 分光光度法

Optimization and Comparison of Pretreatment for Determination of Soil Available Boron by Methylene Imine Spectrophotometry

Derong Yang

Chengdu Huace Testing Technology Co., Ltd., Chengdu, Sichuan, 610041, China

Abstract: Currently, the main method for determining available boron in soil is spectrophotometry. However, the traditional boiling method is time-consuming, cumbersome to operate, and requires a large amount of experimental consumables. The measurement results are easily affected by the analysis environment, and require high professional skills from the experimental personnel, resulting in unstable analysis results. In view of this, experimental analysis was conducted on the boiling water extraction time and centrifugal cooling time in the pretreatment of the boiling water bath leaching imine-H spectrophotometric method to explore the optimal treatment conditions. Experiments were conducted on standard substances and actual samples, and the results of the effective boron determination of the standard substance were almost the same as the standard value, with a relative standard deviation of less than or equal to 3.2%; the repeatability of the effective boron determination results of actual samples is good, and the relative standard deviation is less than or equal to 5.0%.

Keywords: soil available boron; pre-processing; water bath extraction; spectrophotometric method

0 前言

在目前实验中, 土壤中有效硼含量的测定常采用分光光度法, 包括姜黄素分光光度法和甲亚胺-H 分光光度法, 两种方式均是将土壤样品采用沸水提取, 浸提液与姜黄素或甲亚胺-H 作用后进行分光光度法测定硼含量。其中姜黄素分光光度法操作复杂, 对样品反应过程控制要求严格, 较少运用到环境实验室实际测试中。相较之下, 甲亚胺-H 分光光度法操作简单快速, 适合多个样品测定, 也适合有效硼含量较高样品的测定, 方法应用比较普遍, 所以论文采用该分光光度法进行相关实验研究。但其灵敏度较低, 浸出时间、显色温度及光照等因素容易对测试结果造成干扰。有效硼的前处理采用直接煮沸的方式进行处理, 难以保证煮沸时间以及煮沸强度的一致性, 导致测定结果出现较大偏差。另外, 直接煮沸所需的石英玻璃耗材昂贵, 成本过高, 不适宜大批量样品测定。已有研究对有效硼测定前处理过程进行优化, 采用沸水浴浸提法, 该方法相较之前具有成本低、容易控制、效率高等优势, 已被普遍认为适用于有效硼测试前处理过程。目前, 关于沸水浴浸提法的浸提时间、浸提温度以及浸

提方式等研究较多, 但结论较多, 尚不统一。

基于此前, 论文对沸水浴浸提分光光度法测试土壤有效硼的过程进行全流程的分析, 重点考察浸提时间和离心前冷却时间的影响, 以进一步优化沸水浴浸提甲亚胺-H 分光光度法测试有效硼的条件, 获得更准确有效的结果。

1 实验部分

1.1 样品选择

首先从以往测试的土壤样品中选出三种符合实验室测试条件的土样, 再挑选四种不同浓度(高、中、低浓度需至少各一个)、不同地区的有证标准物质进行实验。标准物质详细信息表如表 1 所示。

1.2 主要仪器设备与试剂耗材

1.2.1 主要仪器

紫外可见分光光度计: UV-7504, 国产, 上海欣茂, 配 20mm 比色皿。

数显恒温水浴锅: HH-8 型, 常州普天仪器制造有限公司。

离心机: DD-6000 低速离心机, 四川蜀科仪器有限公司。

天平: ZG-TP203, 50mL 带盖聚乙烯离心管。

表 1 标准物质详细信息表

标准物质编号	采样地点	土壤类型	有效硼标准值 (mg/kg)
GBW07494 (HTSB-2)	陕西渭南	黑垆土	0.55 ± 0.06
GBW07495 (HTSB-3)	宁夏吴忠	灌淤土	2.08 ± 0.16
GBW07496 (HTSB-4)	甘肃威武	灌漠土	1.08 ± 0.10
GBW07498 (HTSB-6)	新疆阿克苏	棕漠土	4.44 ± 0.30

1.2.2 主要试剂

实验用水为去离子水。

高锰酸钾溶液 [c(1/5KMnO₄)=0.2 mol/L]: 称取 3.162g 高锰酸钾溶于水中, 定容 100mL, 转移至试剂瓶中。

硫酸溶液 [c(1/5H₂SO₄)]: 量取 100mL 浓硫酸 (优级纯), 缓缓加入盛有 500mL 水的烧杯中, 不断搅拌, 待冷却后转移至试剂瓶中。

酸性高锰酸钾溶液: 0.2mol/L 高锰酸钾溶液与 (1+5) 硫酸等体积混合, 现用现配。

抗坏血酸溶液 (100g/L): 称取 10g 抗坏血酸溶于水中, 在 100mL 容量瓶中定容, 转移到塑料瓶中, 现用现配。

甲亚胺溶液: 称取 0.90g 甲亚胺和 2.00g 抗坏血酸溶于微热的 60mL 水中, 完全溶解后再稀释至 100mL, 定容, 储于塑料瓶中。

pH 值 5.6~5.8 缓冲溶液: 称取 250g 乙酸钠和 10.0gEDTA 二钠盐溶于 250mL 水中, 冷却后用水稀释至 500mL, 再加入 80mL1 : 4 硫酸 (优级纯) 溶液, 摇匀。

混合显色剂: 量取 3 体积上述甲亚胺溶液和 2 体积 pH 值 5.6~5.8 缓冲溶液混合。

硫酸镁溶液 [ρ (MgSO₄ · 7H₂O)=1.0g/L]: 称取 1.00g 硫酸镁溶于水中, 稀释至 1000mL。

硼标准系列溶液: 吸取 50.00mL 直接购买的 100μg/mL 硼标准贮备液于 500mL 干净塑料容量瓶中, 用无硼水定容, 即为 10μg/mL 硼标准溶液, 贮于塑料瓶中。分别吸取 10μg/mL 硼标准溶液 0.0mL、0.50mL、1.00mL、2.00mL、3.00mL、4.00mL、5.00mL 于 7 个 50mL 容量瓶中, 用无硼水定容, 即为 0.0μg/mL、0.10μg/mL、0.20μg/mL、0.40μg/mL、0.60μg/mL、0.80μg/mL、1.0μg/mL 硼标准系列溶液, 贮于塑料瓶中。

1.3 实验步骤

称取风干土壤样品 10.00g (精确到 0.01g), 置于 50mL 聚乙烯离心管中准确加入 20.00mL 的硫酸镁溶液, 密封放

入水浴锅中, 设置水浴温度 100℃, 待温度稳定后开始计算浸提时间, 浸提结束后, 趁热转移至离心管中离心 2min (离心速度 4000r/min)。

取 4mL 离心后的上层澄清浸提液于 10mL 塑料比色管中, 加入 0.5mL 酸性高锰酸钾溶液, 摇匀放置 3min, 再加入 0.5mL 抗坏血酸溶液, 摇匀等紫红色褪去, 且产生的二氧化锰沉淀完全溶解后, 再加入 5.00mL 混合显色剂, 摇匀, 放置 1h 后于波长 415nm 处用 2cm 比色皿测定其吸光度。

校准曲线的绘制: 分别吸取 0.0mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L、0.4mg/L、0.6mg/L、0.8mg/L、1.0mg/L 硼标准系列溶液 4.00mL 于 10mL 比色管中, 其他步骤同样品分析, 绘制校准曲线并计算回归方程。

1.4 数据分析

实验所得所有数据皆由 EXCEL 2006 和 SPSS 2010 处理可得。

2 结果与分析

2.1 线性拟合曲线

经三次重复测试, 甲亚胺-H 分光光度法测定有效硼的标准曲线 R 值均可达到 0.999 以上, 线性良好, 重现性好。具体结果如表 2 所示。

表 2 标准曲线

曲线编号	标准曲线方程	R
1	y=0.1880x+0.000	0.9994
2	y=0.1894x+0.005	0.9996
3	y=0.1841x+0.000	0.9993

2.2 不同浸提时间对测定结果的影响分析

将四个浓度的土壤标准物质进行三次重复实验, 具体实验数据如表 3、表 4、表 5、表 6 所示。

表 3 不同浸提时间对有效硼测定结果的影响 (HTSB-2)

浸提时间	1	2	3	平均值 (mg/kg)	相对误差 (%)
10min	0.34	0.47	0.36	0.39	29.1
15min	0.54	0.57	0.51	0.54	1.8
20min	0.56	0.59	0.62	0.59	7.3
25min	0.64	0.59	0.66	0.63	14.5

表 4 不同浸提时间对有效硼测定结果的影响 (HTSB-3)

浸提时间	1	2	3	平均值 (mg/kg)	相对误差 (%)
10min	1.89	1.91	1.78	1.86	10.6
15min	2.09	2.14	2.10	2.11	1.4
20min	2.16	2.44	2.26	2.28	9.6
25min	2.41	2.39	2.33	2.38	14.4

表 5 不同浸提时间对有效硼测定结果的影响 (HTSB-4)

浸提时间	1	2	3	平均值 (mg/kg)	相对误差 (%)
10min	0.91	0.94	0.90	0.92	14.8
15min	1.09	1.12	1.08	1.10	1.8
20min	1.21	1.24	1.22	1.22	13.0
25min	1.26	1.34	1.30	1.30	20.3

表 6 不同浸提时间对有效硼测定结果的影响 (HTSB-6)

浸提时间	1	2	3	平均值 (mg/kg)	相对误差 (%)
10min	3.69	4.07	3.99	3.92	11.7
15min	4.40	4.45	4.34	4.40	0.9
20min	4.55	4.61	4.47	4.54	2.2
25min	4.61	4.42	4.70	4.58	3.1

随着浸提时间的增加, 四种标准物质有效硼的测试浓度相应增高, 但时间越长, 增长的速度越为缓慢。通过对比不同浸提时间的测定浓度, 浸提时间为 15min 的测定值最接近标准值, 相对误差最小 (均小于 2%), 故选择 15min 作为浸提时间最为合适。

2.3 离心前冷却时间对测定结果的影响分析

选取标准物质 (HTSB-3、HTSB-4) 进行相关实验, 沸水浴浸提时间为 15 分钟, 控制离心的时间为: ①浸提结束后立即离心; ②冷却放置 1h 后离心; ③冷却放置 3h 后离心。具体实验数据如表 7、表 8 所示。

表 7 冷却时间对有效硼测定结果的影响 (HTSB-3)

测定次数	a	b	c
1	2.14	2.02	1.96
2	2.09	2.11	2.02
3	2.12	2.04	2.05
4	2.08	2.06	2.00
5	2.14	2.00	1.89
6	2.06	2.03	1.97

标准物质 HTSB-3 的 3 种离心时间的平均值分别为 2.10mg/kg、2.04mg/kg 和 1.98mg/kg, 均在标准物质可接受范围内, 另外测定值 RSD 分别为 1.6%、1.9% 和 2.8%。

表 8 冷却时间对有效硼测定结果的影响 (HTSB-4)

测定次数	a	b	c
1	1.09	0.96	0.94
2	1.10	1.02	0.96
3	1.08	1.10	0.98
4	1.14	1.04	0.96
5	1.12	1.01	1.02
6	1.04	1.03	0.96

标准物质 HTSB-4 的 3 种离心时间的平均值分别为 1.10mg/kg、1.03mg/kg 和 0.97mg/kg, 其中①②两方式的有效硼测定值在标准物质可接受范围内, ③略低于可接受的最低值, 另外测定值 RSD 分别为 3.2%、4.4% 和 2.8%。

2.4 浸提过程中是否震荡对测定结果的影响分析

在得出了沸水浴浸提土壤有效硼适宜浸提时间及离心冷却时间后, 尝试探究沸水浴浸提方式下是否震荡浸提对提取土壤有效硼的影响。选取标准物质 HTSB-3 进行相关实验, 沸水浴浸提时间为 15min, 并在浸提结束后立即离心, 控制沸水浴浸提过程中: ①每隔五分钟在手动震荡 5~10s (震荡过程中离心管不离开水浴锅); ②水浴 15min 内无震荡行为。具体实验数据如表 9 所示。

表 9 浸提过程中震荡对有效硼测定结果的影响

测定次数	a	b
1	2.14	2.06
2	2.09	2.08
3	2.12	2.09
4	2.08	2.06
5	2.12	2.09
6	2.13	2.08

标准物质 HTSB-3 的 ①方式振荡后测定值平均值为 2.11mg/kg, 在标准物质可接受范围内, 相对误差为 1.6%, RSD 为 1.1%; ②方式不震荡测定值平均值为 2.08mg/kg, 在标准物质可接受范围内, 相对误差为 0.2%, 另外测定值 RSD 为 0.7%。

2.5 实际样品测定分析

为进一步确定前文所选的最佳浸提时间及离心后冷却时间是否可行, 选用沸水浴浸提 15min, 并在浸提过程中完成三次 5~10s 手动振荡, 浸提完成后立即离心 2min 的方式, 处理完毕后吸取上清液进行显色测试, 对土壤类型实际样品做 6 次平行测定, 计算其平均值、标准偏差、相对标准偏差等各项参数。具体实验数据见表 10、表 11。

2.6 结果分析

沸水水浴的浸提时间会较大程度上影响土壤中有效硼的浸出提取。当浸提时间过短, 土壤浸提不充分, 导致有效硼测定结果偏低, 反之当浸提时间过长, 可能致使土壤中其他非有效硼成分浸提出来干扰结果导致结果偏高。在浸提达到一定时间后, 浸提浓度不再有明显上升趋势, 最后趋于不变。另外, 论文只使用 50mL 带塞离心管作为浸提容器, 但不同的浸提容器可能由于材质不同, 导热性能有差异, 也会导致测定结果之间的偏差。

表 10 改变前处理条件前实际样品精密度测试数据

测试次数	1	2	3	4	5	6	平均值 (mg/kg)	标准偏差 s (mg/kg)	精密度 RSD (%)
	(mg/kg)								
样品 1	0.33	0.47	0.37	0.39	0.42	0.43	0.40	0.049	12.2
样品 2	0.99	0.93	0.87	0.85	0.98	0.82	0.91	0.071	7.8
样品 3	10.11	10.06	9.58	9.29	9.84	10.09	9.83	0.33	3.4

表 11 改变前处理条件后实际样品精密度测试数据

测试次数	1	2	3	4	5	6	平均值 (mg/kg)	标准偏差 s (mg/kg)	精密度 RSD (%)
	(mg/kg)								
样品 1	0.38	0.41	0.39	0.42	0.37	0.39	0.39	0.019	4.7
样品 2	0.96	0.89	0.98	0.97	1.03	1.01	0.97	0.048	5.0
样品 3	10.01	9.46	9.87	9.55	9.92	9.71	9.75	0.22	2.2

3 结论

①本实验使用的浸提容器为实验室常见的 50mL 带盖聚乙烯离心管，壁厚约为 0.25mm，浸提时间为 15 min 时效果最佳。不同的浸提容器，由于容器本身的导热性能有所差异，所以在运用沸水浴浸提处理样品时，需要根据所用的容器材质、容器厚度等，适量减少或增加浸提时间，再根据测定结果选择合适的浸提时间，以保证获得符合现有国家测试标准的测定结果。

②浸提完成后立即离心的测定结果最为准确，且将时间利用到最大化。

③采用改进后的分光光度法，测试结果精密度有所提高，实际操作时也更加方便快捷，大幅度缩短前处理时间，提高了样品的测试效率，为实验室人员进行大批量样品测试提供较优的处理方式。

参考文献：

[1] 金继运,何萍涂,仕华.我国农田土壤微量元素供应能力现状分析[J].中国农资,2006(3):70-71.
 [2] 易田芳,向勇,蒋建军,等.四酸微波消解-电感耦合等离子体发射

光谱(ICP-OES)法测定土壤和沉积物中全硼含量[J].中国无机分析化学,2023,13(6):576-581.

[3] 汤应君,邓正春,陈志兵,等.油菜花而不实的原因及其防控措施[J].作物研究,2019,33(2):160-161.
 [4] 谭小兵,杨焕文,徐照丽,等.高硼植烟土壤对烤烟生长发育的影响及其钾肥调控措施[J].南方农业学报,2017,48(10):1789-1794.
 [5] 杨金兰,刘兵华.甲亚胺-H比色法和姜黄素比色法测定土壤中有有效硼的对比研究[J].广东化工,2022,49(23):241-243.
 [6] 占国艳,潘政,梁红芳,等.土壤中有有效硼含量测定方法优化与对比[J].中国无机分析化学,2023,13(8):831-838.
 [7] 中华人民共和国农牧渔业部.土壤有效硼的测定方法:GB12298—1990[S].北京:中国标准出版社,1990.
 [8] 中华人民共和国农业部.土壤检测第8部分:土壤有效硼的测定:NY/T 1121—2006[S].北京:中国标准出版社,2006.
 [9] 梁雅丽,江辉.采用甲亚胺试剂分光光度法进行土壤有效硼测定的影响因素分析[J].山西科技,2008,33(2):25-28+32.

作者简介: 杨德容 (1988-), 女, 中国重庆人, 硕士, 中级工程师, 从事环境监测研究。