

土壤中有有效钴的比色测定

蔡祖聪 刘 铮

(中国科学院南京土壤研究所)

摘 要

本文介绍了用2.5%HOAc作提取剂时,用5-Cl-PADAB试剂直接比色测定土壤有效钴的方法和条件,以及用EDTA乙酸盐缓冲液作提取剂时,以Zn取代出被络合的Co(II),然后用5-Cl-PADAB试剂显色测定Co(II)的方法。

钴是人和动物的必需营养元素,也是豆科植物和藻类固氮的必需营养元素。世界各地分布有许多缺钴的土壤,从而导致一些地区反刍动物不能正常生长。土壤中有有效钴含量是衡量土壤中钴丰缺状况的一个重要指标。但土壤中有有效钴含量很低,一般只占全钴的3—20%,约在 $<0.01-5\text{mgkg}^{-1}$ 之间(2.5%HOAc提取)。因此,给直接测定带来了很多困难。

Shibata等在60年代末,研究了一系列PAN与PAR的衍生物,提出用5-Cl-PADAB{4-[(5-氯-2吡啶)偶氮]-1,3二氨基苯}作为测定钴的试剂^[1]。此试剂目前是比较法测定钴的最灵敏的试剂之一,克分子消光系数 $\epsilon = 1.13 \times 10^5$,仅Fe(III), Fe(II)和Cr(VI)对测定有干扰。我国曾对该试剂用于比色法测定钴的显色条件和干扰离子的排除等方面作过较深入的研究^[2,3]。5-Cl-PADAB也被用作地球化学标准参考样研制时分光光度法测钴的显色剂^[4],但用于土壤有效钴的比色测定还未见报道。鉴于2.5%HOAc(pH2.5)和EDTA是二种最常用的提取土壤中有有效钴的试剂^[5],故本文介绍这二种提取土壤有效钴的比色测定方法。

一、试剂及仪器

5-Cl-PADAB(北京化工厂产品): 0.05%乙醇溶液;

2.5%HOAc(pH2.5): 用水乙酸配制;

EDTA乙酸盐缓冲液: $0.02\text{mol/L EDTA} + 0.5\text{mol/L HOAc} + 0.5\text{mol/L NH}_4\text{OAc}$ (pH4.76);

磷酸盐缓冲液: $0.5\text{mol/L KH}_2\text{PO}_4$ 溶液与 $0.5\text{mol/L Na}_2\text{HPO}_4$ 溶液混合;

标准钴溶液: 准确称取除去所有结晶水的 CoCl_2 (AR)溶于水后定容,稀释至 1mgkg^{-1} 待用。

吸收曲线由日产日立220A分光光度计自动波长扫描测定,比色用一般分光光度计。

二、2.5%醋酸作为提取剂的比色测定

2.5%HOAc(pH2.5)是最常用的提取土壤有效钴的试剂。一般认为,若2.5%HOAc所

提取的钴量 $<0.25-0.3\text{mgkg}^{-1}$ 时,则食用生长于该土壤上牧草的反刍动物很可能出现缺钴症状。但是,在石灰性土壤中,由于HOAc与碳酸盐发生中和反应后,其提取钴的能力很弱。该提取剂一般不适宜于 $\text{pH}>6$ 的土壤。

(一)实验方法

吸取一定量的土壤提取液于25ml容量瓶中,加5ml磷酸盐缓冲溶液,1滴0.2%对硝基酚溶液,用6mol/LNaOH调节至溶液呈黄色,加1ml0.05%5-Cl-PADAB乙醇溶液,放置数分钟,加5ml85%磷酸酸化,定容。在567nm处对试剂空白用4cm比色槽测定吸光度。

(二)结果与讨论

据报道,在磷酸盐的缓冲溶液中,溶液pH在4—10之间时,可以定量地生成钴与试剂的络合物。加酸酸化后,只要酸的浓度在2.4—4.8mol/L之间,溶液的颜色无明显变化^[2]。

表1 用不同波长测定钴的吸光度

波 长	565	566	567	568	569	700
吸光度*	0.2217	0.2229	0.2231	0.2231	0.2220	0.2203

* $3\mu\text{gCo}/25\text{ml}$ 对试剂白空的吸收曲线,1cm比色槽。

1. 吸收曲线。从表1可以看出,试剂与钴形成的络合物其吸收峰在567—568nm之间。因此,我们选用波长567nm作为测定波长。

试剂对蒸馏水(空白)的吸收曲线表明,在波长567nm处,试剂本身有一定吸收,所以加入的试剂量必须精确。

2. 显色温度和时间对络合物形成的影响。试验表明,在室温(15℃)下,钴与5-Cl-PADAB迅速显色,而无需加热(表2)。

3. 干扰试验。Shibata等^[4]的研究表明,Fe(Ⅲ)和Cr(Ⅵ)对5-Cl-PADAB测定钴有严重的干扰。从表3可以看出,以磷酸盐作掩蔽剂时,可以消除Fe(Ⅲ)的干扰,但对高量

表2 显色时间和温度对络合物形成的影响

温 度	室 温 (15℃)					水浴(80—90℃)
	5'	10'	30'	1h	1h30'	
显色时间						5'
吸光度*	0.264	0.266	0.268	0.264	0.266	0.261

* $1\mu\text{gCo}/25\text{ml}$,4cm比色槽。

表3 磷酸盐作掩蔽剂时干扰离子的影响

干扰离子	Fe(Ⅲ)	Ni(Ⅱ)	Cr(Ⅵ)	Cu(Ⅱ)	Ca(Ⅱ)	实际钴量
加入量(μg)	1000	100	10	100	1000	
测得钴量(μg)	2.98	2.95	2.84	2.92	2.93	3.00

表4 回收率试验

土壤	提取液中钴(μg)	加入 $1\mu\text{g}$ 钴后(μg)	回 收 率 (%)
砖 红 壤	0.06	1.02	96
砖 红 壤	0.73	1.70	97
黄 棕 壤	0.58	1.55	97
黑 土	0.08	1.04	96
棕 壤	0.21	1.30	109

的Cr(Ⅵ)的掩蔽作用不大,仍有一定程度的干扰。不过,土壤中2.5%HOAc提取的铬即使全铬含量很高的蛇纹岩发育的土壤中也不足 1mgkg^{-1} ^[6]。因此,磷酸盐作掩蔽剂时,可以满足测定的需要。在操作中,如果发现络合物颜色不稳定,则应考虑是否有Cr(Ⅵ)的干扰。

4. 回收率试验。此法测定钴的回收率

在96—109%之间(表4), 可以满足土壤中有效钴的测定。

三、EDTA 缓冲液作为提取剂时的比色测定

(一) 实验方法

吸取一定量土壤EDTA缓冲液提取液于25ml容量瓶中, 加3ml 0.2mol/L ZnSO₄, 放入80—90℃烘箱中加热15分钟, 充分冷却后加1ml 0.05% 5-Cl-PADAB 乙醇溶液, 放置数分钟, 加1:1磷酸10ml酸化, 定容后在波长567nm处对试剂空白用4cm比色槽测定吸光度。

(二) 结果与讨论

在含EDTA或DTPA的溶液中, 钴与EDTA或DTPA络合, 不能再与5-Cl-PADAB络合显色。因此, 要测定被EDTA络合的钴, 首先必须把钴释放出来。这可以采用破坏EDTA或者选用适当的其它离子把被络合的钴置换出来。由于前者操作手续较繁, 故本文选用后者。

Zn(II)既不干扰5-Cl-PADAB测定钴, 而且它与EDTA的络合稳定常数略大于Co(II) EDTA的络合稳定常数。因此, Zn(II)有可能把被EDTA络合的Co(II)置换出来。另一方面, 由于Fe(III) EDTA有更大的络合稳定常数, 所以, Zn(II)不破坏EDTA本身对Fe(III)的掩蔽作用。在这样的体系中无需再使用其它的掩蔽剂。

1. ZnSO₄加入量。表5表明, 在10ml 0.02mol/L EDTA 乙酸盐缓冲溶液中, 加入2ml或3ml 0.2mol/L ZnSO₄即可把EDTA络合的Co(II)全部置换出来。此时, Zn(II)与EDTA的浓度比为2:1或3:1。实验中选用3ml 0.2mol/L ZnSO₄。

2. 温度对Zn(II)置换Co(II)的影响。在室温下, Zn(II)对Co(II)的置换过程非常缓慢, 提高温度可以加速置换过程(表6)。为此, 建议在80—90℃的烘箱中加热15分钟。

3. 干扰试验。表7结果说明EDTA能有效地掩蔽Fe(III)的干扰。只有当Fe(III)达100 mgkg⁻¹时, 才略显干扰。但一般土壤中Fe(III)含量不可能如此之高。由于Fe(II)容易氧化成Fe(III), 所以其干扰也易消去。

表5 ZnSO₄ 加入量对测定结果的影响*

ZnSO ₄ (ml)	0	1	2	3
测得钴(μg)	0	0.71	0.99	0.99

*1) 0.2mol/L EDTA 乙酸盐缓冲液 10ml; 2) 钴实际含量1μg; 3) 在80—90℃烘箱加热15分钟。

表6 Zn(II)置换Co(II)时温度的影响*

温度(℃)	16(室温)	60	80
测得钴(μg)	0.73	0.87	0.99

*1) 实际钴含量1μg; 2) 加热15分钟; 3) ZnSO₄ 3ml。

表7 几种离子的干扰试验

干扰离子	Fe(III)			Fe(II)	Ca(II)	实际钴量
加入量(μg)	100	200	500	100	5000	1.00
测得钴(μg)	1.03	1.05	1.06	0.84	0.93	

在测定中还发现, 如果显色剂和Zn(II)同时加入, 然后加热, 这样上述离子的干扰不能消除, 特别是不能消除Fe(III)的干扰。所以显色剂必须在加热并经充分冷却后再加入。

在含有大量CaCO₃的土壤中, 测定土壤全钴和有效钴时, 如用磷酸盐作掩蔽剂均会产生

表8 回收试验的结果

土 壤	提取液钴 (μg)	加入 $1\mu\text{g}$ 钴后 (μg)	回 收 率 (%)
砖 红 壤	1.10	2.03	93
红 壤	0.59	1.59	100
红 壤	1.08	2.00	92
黄 壤	0.63	1.57	94
棕 壤	0.27	1.30	103
黑 土	0.21	1.11	90
栗 钙 土	0.37	1.29	92

生磷酸钙沉淀, 并形成凝胶状, 使测定结果偏低。用 Zn(II)EDTA 作掩蔽剂, 在测土壤全钴时适当加大 EDTA 浓度, 可以避免这一问题, 铁的干扰也可消除。

4. 回收率试验。此法测有效钴的回收率在90—100%之间(表8)。

值得一提的是, Zn(II) 只能置换被 EDTA 络合的二价钴, 而不能置换被 EDTA 络合的三价钴。土壤中普遍存在三价

钴, EDTA 可同时提取二价和三价钴。采用上述方法, 测出的钴是被 EDTA 乙酸盐缓冲液提取的二价钴, 而不会将对植物有效性尚不确定的三价钴也测出来。

参 考 文 献

- [1] Shibata, S., M. Furukawa, et al., *Anal. Chim. Acta*, 55:231, 1971.
- [2] 北京大学化学系分析化学教研室钢铁分析组, 应用5-Cl-PADAB分光光度法测定钢铁中微量钴, *分析化学*, 第3期, 28页, 1973。
- [3] 吴桂生、陶福铭, 钢铁中微量钴的测定——4-[(5-氯-2-吡啶)偶氮]-1, 3-二氨基苯比色法, *分析化学*, 第4期, 36页, 1973。
- [4] 地球化学标准参考样研究组, 地球化学标准参考样的研制与分析方法GSD1-8, 地质科学出版社, 1986。
- [5] Katyai, J. C. and N. S. Randhawa, *FAO fertilizer and plant nutrition bulletin* 7, 1983.
- [6] H. 奥贝尔, M. 潘塔著(刘铮译), 土壤中的微量元素, 科学出版社, 1982。

(上接第277页)

P的有效性, 也很难认识 Ca-P 化合物在石灰性土壤中的作用。所以蒋的新分级体系把 Ca-P 进而区分为 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 、 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 和 $\text{Ca}_{10}\text{-P}$ 是该体系的重要贡献。

2. 各级形态无机磷与土壤有效磷(Olsen-P)测定值间相关性的比较

在蒋的分级方法中, Olsen法测得的有效磷与 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 、 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 和 Al-P 间均呈极显著正相关, 而张的分级方法中只有 $\text{NH}_4\text{Cl-P}$ 和 Al-P 与Olsen-P呈极显著正相关。

参 考 文 献

- [1] Chang, S. C. and Jackson, M. L., *Soil Sci.*, 84:133-144, 1957.
- [2] Гинзбург К. Е., Лебедева. Л. С., *Агрохимия*, (1):125-135, 1971.
- [3] 蒋柏藩、顾益初, 石灰性土壤无机磷分级体系的研究, *中国农业科学*, 22(3), 58—66, 1989.
- [4] 顾益初、蒋柏藩, 石灰性土壤无机磷分级的测定方法, *土壤*, 22(2): 101—102, 1990.
- [5] 蒋柏藩、沈仁芳, *土壤学进展*, 18(1): 1—8, 1990.