

邻啡罗啉比色法测定土壤中有效铁的条件优化^①

杨金凤^{1,2}, 周晓康³, 呼丽萍^{1,2*}, 张悦萍²

(1 甘肃省大樱桃工程技术研究中心, 天水师范学院, 甘肃天水 741001; 2 天水师范学院生命科学与化学学院, 甘肃天水 741001;

3 天水市果树研究所, 甘肃天水 741002)

摘 要: 采用 DTPA 溶液浸提-邻啡罗啉比色法测定土壤中有效铁的含量, 探讨了此方法的最佳实验条件。结果表明, 以邻啡罗啉为显色剂, 可在 510 nm 处测定土壤中有效铁的含量; 最适试剂用量为: 每 5 ml 待测液加入 100 g/L 的盐酸羟胺 1 ml, 100 g/L 的醋酸胺 8 ml, 100 g/L 的邻啡罗啉显色剂 10 ml; 待测液显色最适条件为温度在 60℃ 下显色 30 min; 优化后的测定方法相对标准偏差 RSD<2.0%, 回收率 98.6%~100.2%。此法操作简便、灵敏度高、显色稳定、回收率高, 适用于测定微碱性或碱性土壤中有效铁的含量。

关键词: 邻啡罗啉比色法; 有效铁; DTPA;

中图分类号: S151.9⁺5

铁是植物生长发育及生命活动中必需的营养元素之一^[1]。土壤中铁含量的高低直接关系到植物能否正常生长^[2], 其中有效铁与植物的生长关系最为密切。不同土壤中有效铁的含量不一, 在石灰性土壤中有效铁含量在 10^{-6} 级, 往往不能满足作物需要而出现缺铁症状^[3]。影响土壤中铁的可给性的因子很多也很复杂, 目前还难以肯定, 也没有公认的统一方法^[4]。因此, 测定土壤中有效铁的分布状况, 以及实验过程中对方法的优化在实际应用中具有重要的意义。

土壤中铁的测定方法主要有原子吸收分光光度法^[5-6]、电化学分析法^[7]、滴定法^[8]、ICP-AES 法^[9-10]、邻啡罗啉比色法^[11]。原子吸收分光光度法尽管有它的许多优点, 但其造价昂贵, 而且分析人员的业务水平也比较高, 所以此方法不易推广。邻啡罗啉比色法是测定土壤中有效铁的一种简便易行的方法, 适合大量样品的测定。邻啡罗啉比色法用于测定啤酒、葡萄酒等酒类中铁的条件优化已有一些报道^[12-14], 但用于测定土壤中有效铁的条件优化还未见报道。在实际应用中, 有些实验条件、特别是最大吸收波长的选择决定着方法的灵敏度和准确度, 因此有必要对其实验条件进行探讨。本文拟对最大吸收峰、试剂的最适用量、反应温度以及反应时间等条件作进一步的研究, 确定邻啡罗啉比色法测定土壤有效铁的最佳实验条件, 以期进一步提高邻啡罗啉比色法测定土壤有效铁的精

密度和准确度, 从而为诊断土壤供铁水平, 指导合理施用铁肥提供参考。

1 材料与方法

1.1 土样采集和处理

于 2011 年 7 月 19 日至 11 月 18 日在天水市的典型果园区甘谷县、清水县、秦州区和麦积区分别选择有代表性的果园, 其中有山地果园、川地果园及部分园区, 按照地形地貌、土壤类型和耕作制度, 每园采集 2~4 个点土样, 每点选取果树 4 株, 采集树盘范围内的土样, 采样深度 0~20、20~40 cm, 共取得土样 154 份土样带回实验室, 风干, 碾碎, 过 2 mm 尼龙筛后装袋备用。随机取其中部分土样为本试验所用土样。

1.2 实验仪器及试剂

722S 型分光光度计(上海欣茂仪器有限公司); AUY220 电子天平; PHS-3D 精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司); THZ-103B 型振荡器(上海恒科科学仪器有限公司); DK-S24 型电热恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司); 三角瓶(250 ml)、10 ml 的比色管、1 cm 光径比色皿等。

DTPA 浸提剂(pH 7.30, 0.005 mol/L DTPA, 0.01 mol/L CaCl_2 , 0.1 mol/L TEA): 准确称取 DTPA $[(\text{HOCO}-\text{CH}_2)_2\text{NCH}_2\cdot\text{CH}_2)_2\text{NCH}_2\text{COOH}]$ 1.967 g

基金项目: 甘肃省科技厅农业科技成果转化资金计划项目(1105NCNE109)和天水师范学院中青年教师科研项目(TSA0924)资助。

* 通讯作者(huliping@163.com)

作者简介: 杨金凤(1976—), 女, 甘肃甘谷人, 讲师, 硕士研究生, 主要从事植物营养和生态学方面的研究。E-mail: sxsusan@126.com

溶于 TEA(三乙醇胺, $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$) 14.92 g(或 13.3 ml)和少量水,再将氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1.47 g(或无结晶水氯化钙 1.11 g)溶于水中,一并转入 1 L 容量瓶中,加水至约 950 ml,在 pH 计上用 6 mol/L HCl 调节 pH 至 7.30(每升浸提剂约需加 6 mol/L HCl 8.5 ml 或加入浓盐酸 4~5 ml),最后用水定容,贮存于塑料瓶中。浸提剂几个月内不会变质。

铁标准液(100 mg/L 和 10 mg/L):准确称取 0.702 2 g $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶于 5 ml 6 mol/L HCl 中,加热溶解,冷却后移入 1 000 ml 容量瓶中,定容,摇匀,即为 100 mg/L 的铁标准液,吸取此溶液 100 ml 于 1 000 ml 容量瓶中,加 6 mol/L HCl 100 ml 加水定容即为 10 mg/L 的铁标准液。本实验均取用 10 mg/L 的铁标准液。

100 g/L 盐酸羟胺溶液:称 10 g 固体盐酸羟胺($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$)溶于水中,定容至 100 ml。

邻啡罗琳显色剂:称取固体邻啡罗琳 0.1 g,溶于 100 ml 水中,若不溶可略加热。

100 g/L 乙酸钠溶液:称取乙酸钠($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 固体 10 g,溶于水中,定容至 100 ml。

本试验所用试剂均为分析纯,试验用水均为二次蒸馏水。

1.3 实验方法

1.3.1 操作步骤 (1) 铁标准系列溶液的配制及标准曲线的绘制。准确吸取 10 mg/L 铁标准溶液 0、5、10、15、20、25 ml 于 6 个 50 ml 的容量瓶中,加少量水冲洗瓶颈,定容,即为 0、1、2、3、4、5 mg/L 铁标准系列溶液。按待测液显色步骤进行显色,测定吸收值(A),以吸收值作为纵坐标,以铁(Fe)浓度作为横坐标,作标准曲线,即得线性回归方程。注意:在显色的过程中,由于标准液呈强酸性,pH 可能小于 3,超出显色的最适范围,显色后,随着标准液用量的递增,测得的吸光值可能出现从大到小的现象,因此,这种情况下应调节溶液的 pH 使其在 3~9 范围内。

(2) 称取过 2 mm 筛的风干土样 10.00 g 于 250 ml 三角瓶中,加提取剂 DTPA 混合液 20 ml,在 20℃~25℃ 温度下振荡 2 h(180 r/min),立即过滤,取滤液备用。

(3) 吸取 5 ml 待测液,移入 50 ml 容量瓶中,加少量水冲洗瓶颈,加入盐酸羟胺溶液 1 ml,摇匀后加乙酸钠溶液 8 ml,使溶液的 pH 为 5,再加邻啡罗琳显色剂 10 ml 进行显色,定容,30 min 后在分光光度计上选用 510 nm 波长,1 cm 比色皿测定吸收值(A)。

1.3.2 实验条件优化方案设计 本研究考察了测

量波长、盐酸羟胺用量、显色时间与温度对土壤有效铁测定的影响。

2 结果与讨论

2.1 实验条件的选择

2.1.1 测量波长的选择 吸收峰的大小决定着方法的灵敏度,只有选择正确的波长,才能提高测定的准确度。吸取浓度为 4 mg/L 的铁标准液 5 ml,移入 50 ml 容量瓶中,加入盐酸羟胺溶液 1 ml,摇匀后加乙酸钠溶液 8 ml,再加邻啡罗琳显色剂 10 ml 进行显色,用提取剂 DTPA 混合液定容,用 1 cm 的比色皿,以试剂空白为参比,在 440~550 nm 波长范围内测定其吸光度值,绘制吸收光谱曲线(图 1)。从图 1 可以看出,铁与邻啡罗琳形成的络合物的最大吸收波长为 510 nm。因此本试验选用 510 nm 作为测定土壤中有效铁含量的波长。

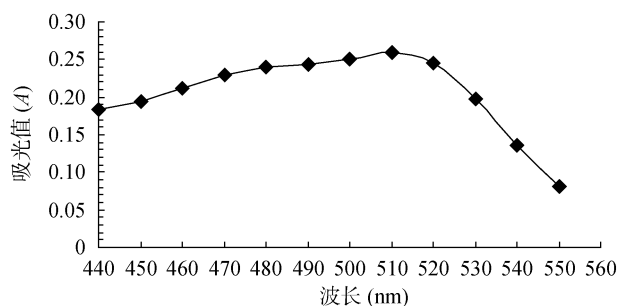


图 1 最大吸收波长的选择
Fig. 1 Selection of the maximum wavelength

2.1.2 盐酸羟胺用量的选择 取 50 ml 的容量瓶 10 个,编号 1~10,分别加入 1 号土样提取液 5 ml,依次分别加入 100 g/L 盐酸羟胺 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 ml,即加盐酸羟胺 0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.12、0.14、0.16、0.18 g,再加入醋酸钠 8 ml 和邻啡罗琳 10 ml,显色充分后,测定不同盐酸羟胺用量时体系的吸光值。测定结果如图 2。

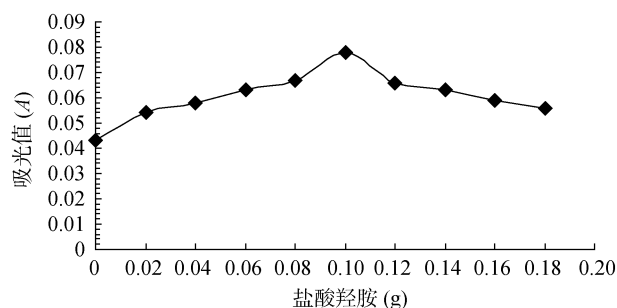


图 2 盐酸羟胺用量对吸光度的影响
Fig. 2 Effect of hydroxylamine hydrochloride content on absorbance

由图 2 可以看出,1 号土样提取液在同样稀释倍数的情况下,加入盐酸羟胺的量在 0~0.8 ml 之间时,吸光值随盐酸羟胺用量的增加而增大;加入盐酸羟胺的量大于 0.8 ml 时,随盐酸羟胺量的增加,吸光值逐渐趋于稳定。因此,含铁量不高于 4 mg/L 时,盐酸羟胺的最小用量为 0.8 ml。为了使反应更加充分,操作更加方便,经济,加 1 ml 最为合理。

2.1.3 显色时间与温度的选择 取 5 只 50 ml 的容量瓶,编号 1~5,分别加入 1 号土样提取液 5 ml,每只容量瓶中分别依次加入提取剂 DTPA 混合液 20 ml,1 ml 盐酸羟胺,8 ml 醋酸胺,10 ml 邻啡罗琳。将 5 只容量瓶分别放入 20℃、40℃、60℃、80℃、100℃ 的恒温水浴锅中保温,显色。由图 3 可以看出,显色 30 min 后,60℃、80℃、100℃ 温度下的 3 条曲线基本重合,且吸光值基本保持不变;40℃ 下的曲线 90 min 后才和 60℃、80℃、100℃ 温度下的 3 条曲线重合且保持不变;20℃ 下的曲线,增长缓慢,3 h 后还不能和前 4 条曲线重合。由此可以确定,在 60℃~100℃ 的温度下,显色充分且快速。因此,从节省能源和显色的充分程度两方面综合考虑,显色的最适条件为温度在 60℃ 下显色 30 min。

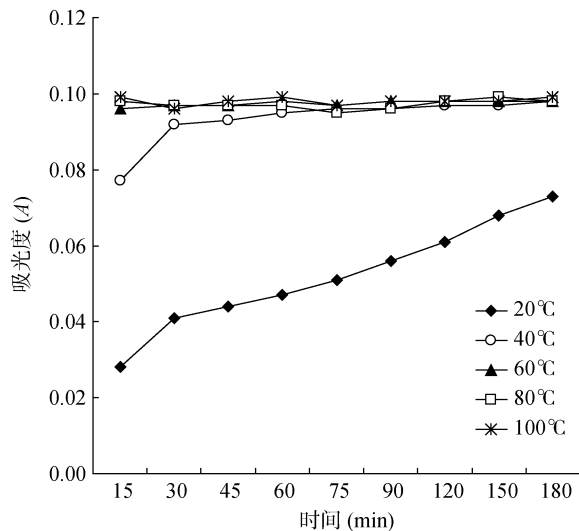


图 3 不同温度下吸光值随时间的变化
Fig. 3 Changes of absorbance with time under different temperatures

2.2 方法的准确度、精密度分析

2.2.1 回收率测定 取 10 mg/L 铁的标准液 5 ml,稀释 10 倍后,取 5 ml 于 50 ml 容量瓶中,依次加入提取剂 DTPA 混合液 20 ml,盐酸羟胺溶液 1 ml,乙酸钠溶液 8 ml,邻啡罗琳溶液 10 ml;置于 60℃ 的水浴中显色 30 min,冷却后定容,在 510 nm 下测定吸光值。测得的吸光值为 0.029,通过标准曲线计算得含铁量为 0.098 4 mg/L,因此,铁的标准液回收率

为 98.4%。

2.2.2 加标回收率测定 随机取土壤样品 3 份,分别是 36、55、107 号样,准确称取风干土样 10 g 置于 150 ml 的三角瓶中,加 DTPA 混合提取液 20 ml,震荡 2 h 后过滤。取滤液 5 ml 于 50 ml 容量瓶中,加入盐酸羟胺 1 ml,醋酸钠 8 ml,邻啡罗琳显色剂 10 ml,置于 60℃ 的水浴中显色 30 min,冷却后定容,测定吸光值。测定结果如表 1。通过实验测定与计算可知,土样加标回收率为 98.6%~100.2%(表 1)。

表 1 方法的准确度
Table 1 Accuracy of determination method

土样	加样量 (mg/L)	标准量 (mg/L)	加标 (mg/L)	加标回收率
36	1.114	1	2.098	98.6%
55	0.326	0.3	0.627	100.2%
107	0.580	0.5	1.073	98.7%

注:加标回收率=(加标量-标准量)/样品量×100%。

2.2.3 精密度分析 准确称取风干土壤样品 10 g 置于 150 ml 的三角瓶中,加 DTPA 混合提取液 20 ml,振荡 2 h 后,过滤。取滤液 5 ml 于 50 ml 容量瓶中,依次加入盐酸羟胺 1 ml,醋酸钠 8 ml,邻啡罗琳显色剂 10 ml,置于 60℃ 的水浴中显色 30 min,冷却后定容,测定吸光值。计算相应土样中铁的含量(mg/kg)、平均值和相对标准偏差 RSD%,结果见表 2。数据显示,采用本文的方法测定土壤中的铁,相对标准偏差在 0.4%~1.1% 之间,RSD%<2.0,说明优化后的测定方法有很高的精密度。

表 2 方法的精密度(n=3)
Table 2 Precision of determination method

土样	测定值 (mg/kg)			平均值 (mg/kg)	RSD%
	1	2	3		
1	16.37	16.27	16.27	16.3	0.4
2	12.44	12.54	12.64	12.54	0.8
3	13.99	13.78	13.88	13.89	0.7
4	8.81	8.91	8.91	8.88	0.7
5	8.91	9.02	8.70	8.88	1.7
6	21.97	21.87	21.76	21.87	0.5
7	8.81	8.70	8.70	8.74	0.7
8	7.88	7.98	7.94	7.94	0.8
9	7.67	7.88	7.77	7.77	1.3
10	9.84	9.74	9.94	9.84	1.1

3 结论

本文确定了邻啡罗琳比色法测定土壤有效铁的最佳实验条件:每 5 ml 待测液加入 100 g/L 的盐酸羟胺 1 ml,100 g/L 的醋酸胺 8 ml,100 g/L 的邻啡罗琳显色剂 10 ml,在 60℃ 下显色 30 min,510 nm 波长

下测定。优化后的测定方法的加标回收率在 98.6% ~ 100.2% 之间, 相对标准偏差在 0.4% ~ 1.1% 之间, 具有很高的精度。

参考文献：

- [1] 吴礼树. 土壤肥料学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 167-169, 255-257
- [2] 钟育均. 邻二氮菲分光光度法测定土壤中铁[J]. 广东化工, 2010(3): 184-187
- [3] 喻华, 冯艳红, 杨剑虹. 土壤微量元素有效含量的提取测定方法比较研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2007(9): 125-128
- [4] 迟光宇, 张兆伟, 陈欣, 史奕. 羟胺浸提-可见分光光度法测定土壤无定形铁[J]. 光谱学与光谱分析, 2008(12): 2 931-2 934
- [5] 中国环境监测总站. 土壤元素的近代分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992: 171-174
- [6] 南京农业大学. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 1990: 162-163
- [7] 李清曼, 季国亮. 土壤中二价铁离子的伏安法测定[J]. 环境化学, 2001, 20(6): 582-587
- [8] 南京大学. 无机及分析化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1998: 331
- [9] 江淑英, 张书圣, 王建华. 铁(III)-三吡啶三嗪配合物的光还原研究及应[J]. 冶金分析, 1994, 14(2): 20-22
- [10] 全国农业技术推广服务中心编. 土壤分析技术规范[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 124-125
- [11] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 225-227
- [12] 张予林, 郑建梅, 魏东梅, 段晨凯. 国标中葡萄酒铁测定方法试验影响因素的探讨[J]. 酿酒, 2002, 29(5): 39-41
- [13] 马美范. 邻菲罗啉比色法测定啤酒中铁含量及试验条件的探讨[J]. 山西食品工业, 1996(4): 37-39
- [14] 鲍会梅. 葡萄酒中铁含量测定的影响因素[J]. 中国酿造, 2009(2): 142-144

Optimizing Conditions for Soil Available Iron Determination with Method of Phenanthroline Colorimetry

YANG Jin-feng^{1,2}, ZHOU Xiao-kang³, HU Li-ping^{1,2*}, ZHANG Yue-ping²

(1 Gansu Engineering Technology Research Center for Sweet Cherry, Tianshui Normal University, Tianshui, Gansu 741001, China; 2 College of Life Science and Chemistry, Tianshui Normal University, Tianshui, Gansu 741001, China; 3 Institute of Fruit Tree of Tianshui City, Tianshui, Gansu 741002, China)

Abstract: In this paper the optimal conditions for the method of DTPA extraction - phenanthroline colorimetry were studied to measure the content of soil available iron. The results showed that the content of soil available iron could be determined at 510 nm by using phenanthroline as the chromogenic reagent. The optimal measuring conditions were: 1 ml of 100 g/L hydroxylamine hydrochloride, 8 ml of 100 g/L ammonium acetate and 10 ml of 100 g/L phenanthroline colorimetry added into 5 ml of the measured sample under the temperature of 60℃ for 30 min coloration. The relative standard deviation of this method was less than 2.0% and recovery rates ranged from 98.6% to 100.2%. It suggested that the method is simple, fast, stable, high sensitive and fits for the alkaline or alkaline soil.

Key words: Phenanthroline colorimetry, Available iron, DTPA