

Luminal-SCN⁻ 化学发光法测定土壤中有效钼

刘炎超, 孟磊*, 王海娟, 高向阳, 王志荣, 胡小宁, 贾玮 (1. 河南农大迅捷测试技术有限公司, 河南郑州450001; 2. 河南农业大学理学院, 河南郑州450002; 3. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南郑州450002)

摘要 用草酸-草酸铵为浸提剂, 采取超声波法提取, 以Luminal-SCN⁻ 化学发光体系测土壤中有效钼。结果表明, 该方法适用于土壤中有效钼的测定。

关键词 化学发光; 土壤; 有效钼

中图分类号 O653 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)04-01300-03

Determination of Available Molybdenum in Soil by Luminal-SCN⁻ Chemiluminescence

LIU Yan chao et al (Xurjie Measurement Technology Co., Ltd, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450001)

Abstract With oxalic acid-ammoniumoxalate as extractant, the available molybdenum in soil was extracted by ultrasonic method and determined by Luminal-SCN⁻ chemiluminescence system. The results showed that the method was suitable for the determination of available molybdenum in soil.

Key words Chemiluminescence; Soil; Available molybdenum

钼(Mb)是植物体内不可缺少的微量元素之一,在植物生理活动中参与固氮、氮的转化和磷的代谢等生命过程。土壤中能被植物吸收利用的钼称为有效钼,主要以 MoO_4^{2-} 的形式存在,目前常用的测定土壤中有效钼的方法有:分光光度法^[1]、光谱法^[2-3]、催化极谱法^[4]等、质谱法^[5]等,这些方法往往具有操作繁杂或必须使用大型仪器等缺点,因而不宜在基层推广使用。化学发光分析方法是近些年迅速发展的一种新的分析方法,它的仪器结构简单、灵敏度高、线性范围宽、分析速度快^[6],资料报道有用电化学发光法测定水中的钼的方法^[7-8],传统的化学发光法测定钼的方法尚未见报道。笔者建立一种采用Luminal-SCN⁻化学发光体系测定土壤有效钼的方法,并应用于实际土壤中有效钼的测定,取得了满意的结果。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 YNFG型瞬稳静态注射化学发光分析仪(河南农大迅捷测试技术有限公司),HY-6多用振荡器(金坛市医疗仪器厂),TL80-2型医用离心机(姜堰市天力医疗器械公司),KQ2200E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。鲁米诺(Luminal,陕西师范大学),草酸、草酸铵、硫酸、硫氰酸铵、硼氢化钾等试剂均为国产分析纯,采用二次重蒸水。草酸-草酸铵浸提剂(Tamm, pH 3):草酸铵24.90 g与草酸12.60 g溶于去离子水中,定容至1 L的容量瓶中,定容前用pH计校正。鲁米诺储备液(2.5×10^{-3} mol/L):称取鲁米诺0.4428 g,用10.0 mL含4.0 g氢氧化钠的溶液溶解,定容于1 000 mL的容量瓶中摇匀作为储备液,避光保存2周以上方可使用。鲁米诺分析液(2.5×10^{-4} mol/L):取50.00 mL鲁米诺储备液,加入25.00 g氢氧化钠,14.50 g碳酸氢钠定容于500 mL的容量瓶中,放置24 h后使用。5.0%的硫氰酸铵:取5.0 g硫氰酸铵用水定容至100 mL。0.1%硼氢化钾:取0.10 g硼氢化钾于100 mL的容量瓶中定容至刻度线,加0.10 mL 50%的氢氧化钠。100 ng/L的 Fe^{3+} :取4.830 0 g的 FeCl_3 于100 mL的容量瓶中,加入2.0 mL/L盐酸1.00 mL,用水定容

至刻度。1+9 H_2SO_4 :10.0 mL浓 H_2SO_4 缓慢加入到90.0 mL的水中,同时用玻璃棒搅动。

1.2 试验方法 样品溶液的制备:称取风干粉碎的土壤样品(过2 mm的筛)2.00 g于100 mL的三角瓶中,加入20.00 mL的Tamm溶液轻微振荡浸泡30 min,放入超声波清洗器中,超声提取4~5 min,转移至25 mL的离心管中高速离心2.0 min,取上层清液10.00 mL,转入100 mL的烧杯中,然后在电炉上低温蒸干,再灼烧至白烟殆尽,用去离子水溶解残留物,过阳离子交换柱,接取第20.00~50.00 mL的交换液为待测液,依次加入2.00 mL 1+9的 H_2SO_4 、2.00 mL的5.0% NH_4SCN 、2.00 mL 0.1%的硼氢化钾,定容至50 mL测定。待测液和发光试剂均为2.00 mL。仪器工作条件:负高压-500 V,增益1倍,测试时间10 s。

2 结果与分析

2.1 反应原理 在试验条件下,单独的 MoO_4^{2-} 和SCN⁻与Luminal混合后均不产生化学发光,将两者混合后直接和Luminal反应不产生化学发光,将两者混合后按试验条件测定则产生较强的化学发光,因此推测 MoO_4^{2-} 被硼氢化钾还原为中间价态与SCN⁻络合后的产物和Luminal反应产生化学发光,在一定的浓度范围内,发光强度和 MoO_4^{2-} 的浓度成正比,可以通过测定化学发光强度来得到样品中的钼浓度。

2.2 H_2SO_4 的用量选择 依次取1+9的 H_2SO_4 0、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL加入到50 mL的比色管中,然后分别加入2.00 mL的钼标准溶液,2.00 mL 5.0%的 NH_4SCN 及2.00 mL 0.1%的硼氢化钾,摇匀,定容到50.00 mL。不同浓度的 H_2SO_4 的相对发光强度如图1所示。由图1知,50.00 mL体系中加入2.00 mL 1+9的 H_2SO_4 为最佳,体系发光强度相对较大且 H_2SO_4 用量较小。

2.3 硼氢化钾的用量 依次取0.1%硼氢化钾0、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL加入到50 mL的比色管中,然后分别加入2.00 mL的钼标准溶液,2.00 mL的1+9 H_2SO_4 及2.00 mL 5.0% NH_4SCN ,定容到50.00 mL。同时分别做空白试验,测定结果,如图2所示。由图2可知,在50.00 mL体系中加入2.00 mL 0.1%的硼氢化钾最佳,此时发光强度在一定的浓度范围内相对比较稳定。

2.4 NH_4SCN 的用量 依次取 NH_4SCN 0、1.00、2.00、3.00、

基金项目 科技部创新基金(07C26214100634)。

作者简介 刘炎超(1975-),男,河南巩义人,硕士,从事现代食品分析方面的研究。* 通讯作者。

收稿日期 2007-09-24

4.00、5.00 ml 加入到50 ml 的比色管中,然后分别加入2.00 ml 的钼标准溶液、2.00 ml 1+9 的 H₂SO₄ 及2.00 ml 0.1% 的硼氢化钾,摇匀,定容到50.00 ml。NH₄SCN 的用量和相对发光强度,如图3 所示。由图3 可知,在50.00 ml 体系中选择2.00 ml 的 NH₄SCN 最佳,此时发光强度在一定的浓度范围内相对比较稳定。

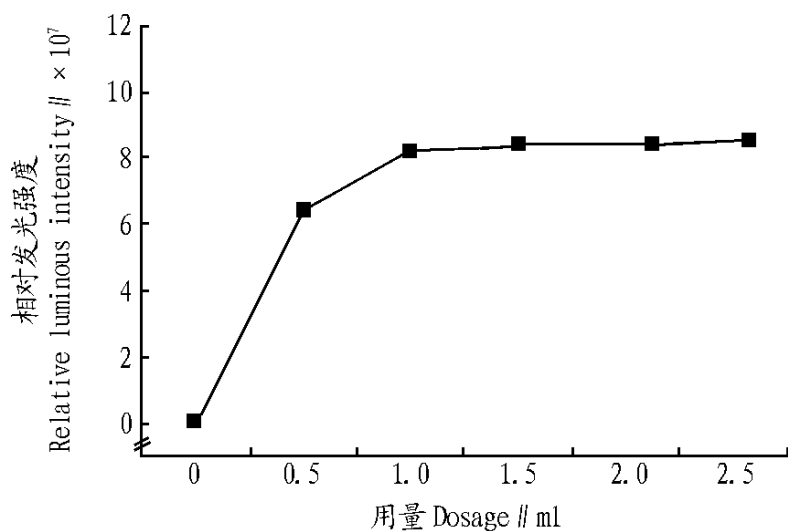


图1 H₂SO₄ 浓度和发光强度的关系

Fig.1 The relationship between H₂SO₄ and luminous intensity

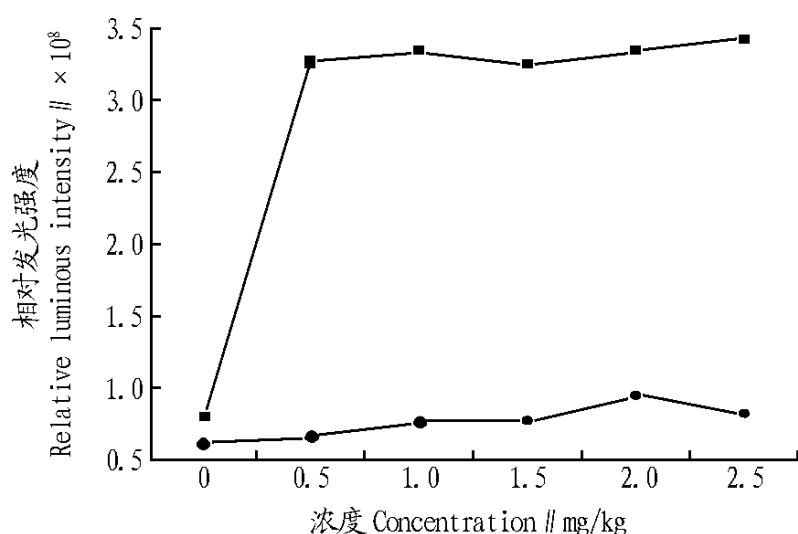


图2 还原剂的浓度曲线

Fig.2 Curve of reductant concentration

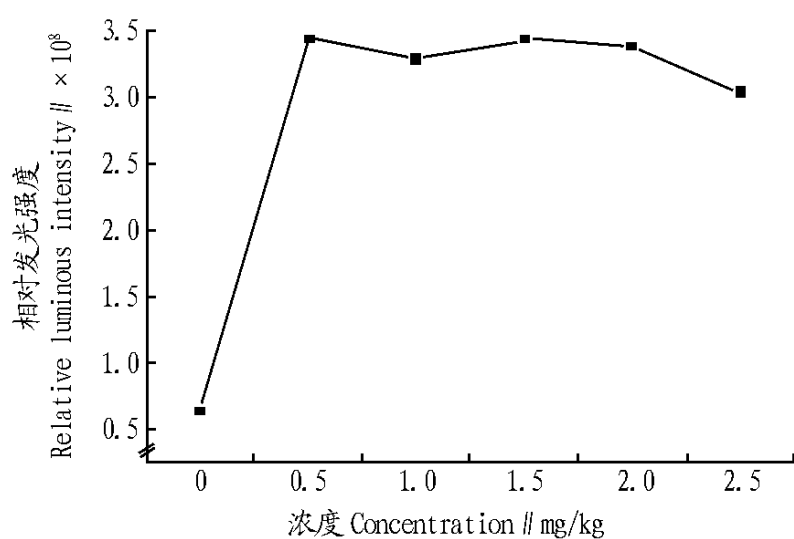


图3 NH₄SCN 的浓度曲线

Fig.3 Curve of NH₄SCN concentration

2.5 干扰及消除

2.5.1 Fe³⁺ 的干扰试验。向0、1、2、3、4 号比色管中分别加入1.00 ml 的钼标准溶液,1.00 ml 的 H₂SO₄,1.00 ml NH₄SCN, 1.00 ml 的0.1% 硼氢化钾然后定容至25.00 ml,上机测试结果。如表1。由表1 可知,Fe³⁺ 对钼的测定影响很大。

2.5.2 消除干扰的方法。005 × 7 型树脂经前处理后装柱^[9-10],柱子的内径为2.0 cm,柱高30.0 cm。首先将交换柱中注入半柱水,将树脂装入交换柱中,随液位升高,适当排水

以保持液面高于树脂层约10 cm,(注意树脂装填时不能带入杂质)。装好的树脂浸泡1 昼夜,用2 倍树脂体积4% 的 HCl 和2% 的 NaOH 交替处理。树脂的高度为23.5 cm(Na 型树脂)。

表1 Fe³⁺ 干扰试验结果

Table 1 The result of Fe³⁺ interference test

	样品编号 No. of sample				
	1	2	3	4	5
加入 Fe ³⁺ 的体积 Volume of Fe ³⁺ added ml	0	0.10	1.00	2.00	5.00
相对发光强度 Relative luminous intensity	6.227 × 10 ⁷	3.36 × 10 ⁸	3.62 × 10 ⁸	3.88 × 10 ⁸	3.55 × 10 ⁸

定量接交换液的体积,取1.00 ml 的钼和10.00 ml Fe³⁺ (此时 Fe³⁺ 浓度是钼的1 000 倍)混合均匀于烧杯中,以1.50 ml/min 的流速依次接取25.00 ml,按接取交换液的时间先后依次为3、4、5、6 号(均为25.0 ml),其中1 号为空白,2 号是加入2.00 ml 的钼标准溶液,与交换液作对照,按照1.2 方法测定,1~6 号样品分别为:3.32 × 10⁷、1.76 × 10⁸、3.29 × 10⁵、1.70 × 10⁸ 未检出。得出结论:由2 号(2.00 ml 钼标准溶液)数据与4 号(2.00 ml 钼标准溶液与 Fe³⁺ 的混合溶液)数据作对比可知,经过离子交换柱处理可以消除 Fe³⁺ 的干扰;由3(0~25 ml)、4(25~50 ml)、5(50~75 ml)、6(75~100 ml)号数据对比可以看出,钼在25~50 ml 被完全洗脱出来。试验表明,在选定条件下,1 000 倍的 Fe³⁺ 对测定没有影响。土壤中常见的其他离子如 Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻ 等对测定均不产生干扰。

2.6 标准曲线的绘制 取1.0 ng/L 的钼标准溶液0、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 ml 于50 ml 的比色管中,在各个管中依次加入2.00 ml 1+9 的 H₂SO₄,2.00 ml 的5.0% NH₄SCN,2.00 ml 0.1% 的硼氢化钾,定容至50 ml,摇匀测定。待测液和发光试剂用量均为2.00 ml。回归方程: Y = 2.695 + 1.981 X, R = 0.999 12,线性范围为:0.02~0.10 ng/kg(图4)。

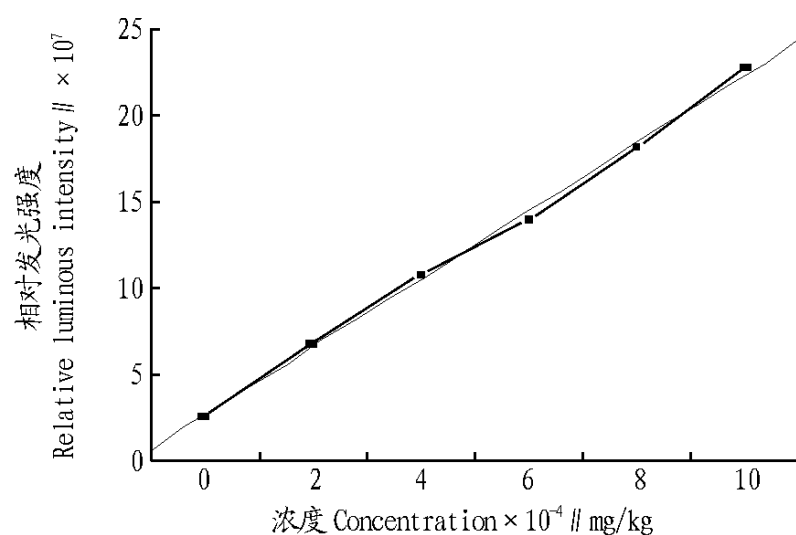


图4 工作曲线

Fig.4 The working curve

2.7 检出限的测定 用空白的标准差的3 倍带入方程,求出方法的检出限为2.97 × 10⁻² ng/kg。

2.8 加标回收试验 选5 个土样,用1.2 的试验方法进行不同浓度的加标回收试验,结果如表2,回收率可达90.1%~115.8%。并由此说明此方法测定的可靠性。

2.9 精密度试验 对浓度为6.0 × 10⁻² ng/kg 的样品连续测

10 次, 结果为相对发光强度($\times 10^7$): 3.429、3.536、3.552、3.636、3.538、3.554、3.530、3.490、3.437、3.551, 平均值为

3.521, 标准偏差为 0.063 6, RSD 为 1.81%。

2.10 准确度测定 用 1.2 的试验方法对标准土进行测定,

表2 样品加入回收率

Table 2 Recovery rate of samples

样品编号 No. of sample	标准值 Standard value ng/kg	1			2		
		添加量 Addition amount ng/kg	回收量 Recovery amount ng/kg	回收率 Recovery rate %	添加量 Addition amount ng/kg	回收量 Recovery amount ng/kg	回收率 Recovery rate %
3	0.32	1.00	0.917	91.7	2.00	2.319	115.8
14	0.16	1.00	1.034	103.4	2.00	1.818	90.5
NBP2K3	0.23	1.00	0.986	98.6	2.00	1.803	90.1
211	0.98	1.00	1.099	109.9	2.00	1.952	97.7
112	0.51	1.00	0.914	91.4	2.00	1.920	96.0

表3 准确度试验

Table 3 The test for accuracy

标准土编号 No. of standard soil sample	相对发光强度 Relative luminous intensity $\times 10^7$	浓度 Concentration ng/kg	标准浓度 Standard concentration ng/kg
7415	7.453	0.093	0.13 \pm 0.04
7416	7.884	0.250	0.20 \pm 0.05
7417	8.499	0.160	0.17 \pm 0.04

表4 方差分析结果

Table 4 The result of variance analysis

方差来源 Source of V.	离差平方和 SS	自由度 DOF	均方差 SD	F 值 F value	P 值 P value	$F_{0.05}$
组间 Between groups	1.5E 06	1	1.5E 06	0.000 403	0.984 941	7.708 647
组内 Within group	0.014 879	4	0.003 72			
总和 Total	0.014 881	5				

测定值及其标准值, 见表3。测定结果和标准值对比, 进行单因素方差分析, 结果见表4。经过 F 检验, 测定结果和标准值没有显著差异。

(上接第1299页)

品溶液制备方法及测定方法, 测定吸光度值, 结果 1、2、3 编号重现性分别为: 0.456、0.472、0.458, $n=3$, RSD 为 0.40%, 表明具有良好的重现性。

2.4 回收率试验 采用加标回收法, 将已知总酚含量的红枣样品 9 份分成 3 组, 各组分别加入对照品 30、40、50 μg , 按上述样品溶液制备与测定方法检测总酚浓度, 并计算回收率, 结果如表 1 所示。

2.5 红枣样品中总酚的含量 按上述样品溶液制备及测定方法测定了不同品种不同产地不同部位红枣总酚的含量, 结果如表 2 所示。从表 2 可以看出, 红枣中总酚含量随产地、品种、部位不同而有所变化, 含量最高的是清润芽枣

3 结论

试验采用了高灵敏的化学发光测定体系, 结合离子交换方法测定土壤样品中有效钼的含量。经过测定标准土样并与真实值进行比较, 两者之间没有显著差异。该方法操作简单、准确、灵敏、快速, 适合作为测定土壤中有效钼的方法。

参考文献

- [1] 鲍士旦. 土壤农化分析 M. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 141-149.
- [2] 王献忠. 石墨炉原子吸收光谱法测定土壤中的有效钼[J]. 萍乡高等专科学校学报, 2003, 4(4): 60-62.
- [3] 秦莹新, 傅文军, 张松. 超声波溶样、APDC-MBK 萃取石墨炉原子吸收法测定土壤中有效钼的研究[J]. 土壤通报, 2006, 37(2): 343-345.
- [4] 钱钊, 许洪洋. 土壤中有效钼的快速测定[J]. 黑龙江国土资源, 2006(11): 42.
- [5] 林光西. 电感耦合等离子质谱测定土壤中有效钼[J]. 分析测试, 2006(4): 69-70.
- [6] 陈国南, 张帆. 化学发光与生物发光-理论及应用 M. 福州: 福建科学技术出版社, 1998: 2-5.
- [7] 郑行望, 章竹君, 王琦, 等. 基于电化学还原鲁米诺化学发光分析法测定水样中的钼[J]. 分析化学, 2003, 31(9): 1076-1080.
- [8] 杨玲娟, 王小芳, 吕九如. 恒电位电生还原剂与鲁米诺化学发光分析研究[J]. 天水师范学院学报, 2003, 23(2): 40-42.
- [9] 胡长平. 土壤有效钼的分析与测定方法[J]. 安徽科技, 2000(1): 41.
- [10] 建辉, 翁连进, 王士斌. 732 阳离子交换树脂吸附 L-组氨酸的酸特性[J]. 化学工程, 2006, 34(2): 1-3.

达 32.49 ng/g; 对于不同品种总酚含量: 芽枣 > 团枣 > 梨枣; 不同部位总酚含量: 枣皮 > 枣肉 > 枣核在检测的 10 个样品中清润芽枣皮中总酚含量最高, 达 35.47 ng/g, 佳县梨枣总酚含量最低, 为 6.68 ng/g。

3 结论

试验结果表明, 该方法简便、快速、准确, 是检测红枣中总酚的可靠方法。

参考文献

- [1] 樊君, 吕磊, 尚红伟. 大枣的研究与开发进展[J]. 食品科学, 2003, 24(4): 161-163.
- [2] 郭新竹, 宁正祥. 天然酚类化合物及其保健作用[J]. 食品工业, 2002(3): 28-29.
- [3] 田文礼, 孙丽萍, 董捷. Fdin-Gocateu 比色法测定大麦提取液中总多酚的含量[J]. 食品科学, 2007(4): 175-177.