

## 土壤有效硼的测定

### A、甲亚胺-H 比色法

#### 1 方法提要

土壤中有有效硼采用沸水提取，提取液用 EDTA 消除铁、铝离子的干扰，用高锰酸钾消褪有机质的颜色后，以甲亚胺-H 比色法测定提取液中的硼量。

#### 2 适用范围

本方法适用于各类土壤中有有效硼含量的测定。

#### 3 主要仪器设备

- 3.1 分光光度计；
- 3.2 石英三角烧瓶，250mL；
- 3.3 石英回流冷凝装置。

#### 4 试剂

- 4.1 高锰酸钾溶液 $[c(\frac{1}{5} \text{KMnO}_4)=0.2\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$ ：称取 31.62g 高锰酸钾溶于水中，稀释至 1L；
- 4.2 硫酸溶液 $[c(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4)=3\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$ ：量取 168mL 浓硫酸缓缓加入到盛有约 800mL 水的大烧杯中，不断搅拌，冷却后，稀释至 1L；
- 4.3 酸性高锰酸钾溶液：0.2mol · L<sup>-1</sup> 高锰酸钾溶液与 3 mol · L<sup>-1</sup> 硫酸等体积混合，当天现配；
- 4.4 抗坏血酸溶液（100g · L<sup>-1</sup>）：称取 10g 抗坏血酸溶于水中，稀释至 100mL，当天现配；
- 4.5 甲亚胺溶液：称取 0.90g 甲亚胺和 2.00g 抗坏血酸溶解于微热的 60mL 水中，稀释至 100mL，必要时过滤，用时现配；
- 4.6 pH5.6~5.8 缓冲液：称取 250g 乙酸铵和 10.0gEDTA 二钠盐溶于 250mL 水中，冷却后用水稀释至 500mL，再加入 80mL 1：4 硫酸溶液，摇匀（用酸度计检查 pH 值）；
- 4.7 混合显色剂：量取份 3 份体积上述甲亚胺溶液和 2 份体积 pH5.6~5.8 缓冲液混合；
- 4.8 硼标准贮备溶液 $[\rho(\text{B})=100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}]$ ：称取预先在浓硫酸干燥器内至少干燥 24h

的硼酸 ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 优级纯) 0.5719g 于 400mL 烧杯中, 加 200mL 无硼水溶解, 移入 1L 容量瓶中定容, 贮于塑料瓶中。

4.9 硼标准系列溶液: 吸取 50.00mL 硼标准贮备溶液于 500mL 容量瓶中, 用无硼水定容, 即为  $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准溶液, 贮于塑料瓶中。分别吸取  $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准溶液 0.0, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00mL 于 7 个 50mL 容量瓶中, 用无硼水定容, 即为 0.0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8,  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准系列溶液, 贮于塑料瓶中。

## 5 分析步骤

称取通过 2mm 孔径尼龙筛的风干试样 10.00g 于 250mL 石英三角瓶中, 加入 20.00mL 水, 装好回流冷凝器, 文火煮沸并保持微沸 5min (准确计时), 移开热源, 继续回流冷凝 5min (准确计时), 取下三角瓶, 冷却。在煮沸过的样品溶液中加入 2 滴硫酸镁溶液加速澄清, 一次倾入滤纸上(或离心), 滤液承接于塑料杯中 (最初滤液浑浊时可弃去)。同时做空白试验。

吸取 4.00mL 滤液于 10mL 比色管中, 加入 0.5mL 酸性高锰酸钾溶液, 摇匀, 放置 2 min ~ 3min, 加入 0.5mL  $100\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  抗坏血酸溶液, 摇匀, 待紫红色消退且褪色的二氧化锰沉淀完全溶解后, 加 5.00mL 混合显色剂, 摇匀, 放置 1h 后于波长 415nm 处, 用 2cm 光径比色皿比色测定。以扣除空白后的吸光值查校准曲线或求回归方程得到测定液的含硼量 ( $m_1$ )。

校准曲线绘制: 分别吸取 0.0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8,  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准系列溶液 4.00mL 于 10mL 比色管中, 此标准系列中硼的含量分别为 0.0、0.4、0.8、1.6、2.4、3.2、4.0  $\mu\text{g}$ 。用标准系列溶液的零浓度调节仪器零点, 同样品操作步骤测定, 计算回归方程或绘制工作曲线。

## 6 结果计算

$$\text{有效硼 (B), } \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} = \frac{m_1 \cdot D}{m \times 10^3} \times 1000$$

式中:  $m_1$ ——显色液中硼的含量,  $\mu\text{g}$ ;

D——分取倍数; 本试验为  $20 / 4 = 5$ ;

$10^3$  和 1000——分别将  $\mu\text{g}$  换算成 mg 和将 g 换算为 kg;

m——试样质量, g。

平行测定结果以算术平均值表示, 保留两位小数。

平行测定结果以算术平均值表示, 保留两位小数。

## 7 精密度

平行测定结果允许绝对相差：

| 有效硼含量, mg/kg | 允许绝对相差, mg/kg |
|--------------|---------------|
| <0.20        | ≤0.03         |
| 0.20~0.50    | ≤0.05         |
| >0.50        | ≤0.06         |

## 8 注释

1) 甲亚胺系在水溶液中显色，灵敏度虽较姜黄素法为低，但操作较简便快速，便于批量化作业，也适合较高浓度范围的测定。

2) 加甲亚胺试剂时必须尽量准确，因试剂本身颜色较深，影响吸光值。每批样品标准系列必须重新测定。

3) 甲亚胺制备：将 H 酸一钠盐 $[C_{10}H_4NH_2OH(SO_3HNa)_2]$ ，1 氨基-8 萘酚-3,6-二磺酸氢钠]18g 溶于 1000mL 水中，稍加热使溶解完全，必要时过滤。在酸度计上边搅拌边用  $100\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  KOH 溶液中和至 pH7，然后边搅拌边滴加 HCl 溶液（1: 1），使酸度为 pH1.5（试纸试之）。小心加热至 60℃，然后边激烈搅拌边徐徐加入水杨醛（ $C_6H_4OH \cdot CHO$ ）20mL，继续保温搅拌 1h，取出置于冷暗处放置 24h 以上。用大号布氏漏斗过滤，收集橙红色沉淀，用无水乙醇洗涤沉淀 5 次~6 次，收集合成的甲亚胺在 100℃干燥 3h，冷却后，在玛瑙研钵中磨细，放在塑料器皿中，贮于干燥器中保存。

## B 姜黄素比色法

### 1 方法提要

土壤中有有效硼用沸水浸提，浸提出的硼用姜黄素比色法测定。在酸性介质中姜黄素与硼结合成玫瑰红色的络合物，即玫瑰花青苷。玫瑰花青苷溶液在  $0.0014\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \sim 0.06\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的浓度范围内符合比尔定律。

### 2 适用范围

本方法适用于各类土壤中有有效硼含量的测定。

### 3 主要仪器设备

3.1 分光光度计；

- 3.2 四联或六联电炉;
- 3.3 恒温水浴;
- 3.4 石英三角烧瓶, 250mL;
- 3.5 石英蒸发皿, 50mL;
- 3.6 石英回流冷凝装置。

## 4 试剂

- 4.1 95%乙醇;
- 4.2 硫酸镁溶液[ $\rho(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})=100\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ]:称取 10.00g 硫酸镁溶于水中,稀释至 100mL;
- 4.3 姜黄素-草酸溶液:称取 0.040g 姜黄素, 5.00g 草酸溶于 100mL 的乙醇(95%)溶液中。
- 4.4 硼标准贮备溶液[ $\rho(\text{B})=100\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ]:称取预先在浓硫酸干燥器内至少干燥 24h 的硼酸( $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 优级纯) 0.5719g 于 400mL 烧杯中,加 200mL 无硼水溶解,移入 1L 容量瓶中定容,贮于塑料瓶中。称取干燥的硼酸 0.5719g 于 400mL 烧杯中,加 200mL 无硼水溶解,移入 1L 容量瓶中定容,即为  $100\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准贮备液。贮于塑料瓶中。
- 4.5 硼标准系列溶液:吸取 50.00mL 硼标准贮备液于 500mL 容量瓶中,用无硼水定容,即为  $10\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准溶液,贮于塑料瓶中。分别吸取  $10\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准溶液 0.0, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00mL 于 7 个 50mL 容量瓶中,用无硼水定容,即为 0.0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8,  $1.0\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准系列溶液,贮于塑料瓶中。

## 5 分析步骤

称取通过 2mm 孔径尼龙筛的风干试样 10.00g 于 250mL 石英三角瓶中,加入 20.00mL 水,装好回流冷凝器,文火煮沸并微沸 5min (准确计时),移开热源,继续回流冷凝 5min (准确计时),取下三角瓶,冷却。在煮沸过的样品溶液中加入 2 滴硫酸镁溶液加速澄清,一次倾入滤纸上(或离心),滤液承接于塑料杯中(最初滤液浑浊时可弃去)。同时做空白试验。

吸取 1.00mL 滤液于 50mL 石英(或瓷)蒸发皿内,加入 4.00mL 姜黄素-草酸溶液,置于  $55^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$  的恒温水浴上蒸发至干(皿底部全部接触水面),自呈现玫瑰红色时开始计时继续烘焙 15min,取下冷却至室温,加入 20mL 95%乙醇,用塑料棒搅动至残渣完全溶解。用中速滤纸过滤到具塞容器内(此溶液放置时间不要超过 3h),以 95%乙醇溶液调零,在分光光度计上用 550nm 波长,1cm 光径比色皿比色,测定吸光度。以扣除空白后的吸光值查校准曲线或求回归方程得到测定液的含硼量 ( $m_1$ )。

校准曲线绘制:分别吸取含 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8,  $1.0\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  硼标准系列溶液

1.00mL 于 50mL 石英（或瓷）蒸发皿中，此标准系列中硼的含量分别为 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0  $\mu\text{g}$ 。以下同样品操作测定，计算回归方程或绘制工作曲线。

## 6 结果计算

$$\text{有效硼 (B), } \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} = \frac{m_1 \cdot D}{m \times 10^3} \times 1000$$

式中： $m_1$ ——显色液中硼的含量， $\mu\text{g}$ ；

$D$ ——分取倍数：本试验为  $20 / 1 = 20$ ；

$10^3$  和 1000——分别将  $\mu\text{g}$  换算成  $\text{mg}$  和将  $\text{g}$  换算为  $\text{kg}$ ；

$m$ ——风干试样质量， $\text{g}$ 。

平行测定结果以算术平均值表示，保留两位小数。

## 7 精密度

平行测定结果允许绝对相差：

| 有效硼含量， $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 允许绝对相差， $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ |
|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| $< 0.20$                                | $\leq 0.03$                              |
| $0.20 \sim 0.50$                        | $\leq 0.05$                              |
| $> 0.50$                                | $\leq 0.06$                              |

## 8 注释

1) 配制试剂须用石英蒸馏器重蒸馏过的水或用无硼去离子水。所使用的玻璃器皿不应与试剂、试样溶液长时间接触，应尽量储存在塑料器皿中。

2) 水提取液中若硝酸盐超过  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  须加氢氧化钙蒸发至干并灼烧来破坏硝酸盐，再用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸溶解残渣后过滤，吸取滤液进行测定。

3) 测硼时必须严格控制显色条件。蒸发的温度、速度和空气流速等必须保持一致，否则再现性不良。所用的蒸发皿要经过严格挑选，以保证其形状、大小和厚度尽可能一致。恒温水浴应尽可能采用水层较深的水浴，并且完全敞开，将蒸发皿直接漂在水面上。水浴的水面应尽可能高，使蒸发皿不致被水浴的四壁挡住而影响空气的流动，以保证蒸发速度一致。

4) 显色测定过程中，不宜中途停止，如因故必须暂停工作，应在加入姜黄素试剂以前，不要在加入姜黄素试剂以后，否则结果会不准确；蒸发显色后不应将蒸发皿长时间暴露在空气中，应将蒸发皿从水浴中取出擦干，随即放入干燥器中，待比色时在取出。以免玫瑰花青

苷因吸收空气中的水分而发生水解，影响测定结果。

5) 酒精溶解后应尽可能迅速比色，因酒精易挥发使溶液的吸收值发生变化。

NoveBio