

# 碳酸氢钠浸提有机磷测定方法探讨

温天雪<sup>1</sup>,张宝贵<sup>1</sup>,郝凤武<sup>2</sup>

(1 中国农业大学资源与环境学院,北京 100094;2 河北广播电视大学,河北石家庄 050071)

**摘要:**碳酸氢钠浸提有机磷的消煮过程是否有磷的挥发和转化,确定是否有必要在消煮前添加饱和  $MgCl_2$  溶液和消煮后水解,试验测定了焦磷酸与偏磷酸、已知浸提有机磷化合物(核酸与苯磷酸钠)、两种浸提液(土壤与秸秆)及含葡萄糖的磷酸二氢钾溶液消煮和水解后的无机磷量。结果表明,消煮能促进偏磷酸和焦磷酸的水解,消煮过程没有磷的挥发和转化,没有磷损失,消煮前无需添加饱和  $MgCl_2$  溶液,消煮后也不用水解。

**关键词:**碳酸氢钠浸提液;有机磷;消煮;挥发;转化

**中图分类号:**S153.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-505X(2001)04-0447-05

碳酸氢钠( $NaHCO_3$ )浸提有机磷包括土壤矿物质吸附的活性有机磷与部分生物量磷,是植物有效磷的重要来源,其主要成分是核酸、磷脂和其他磷酸酯类<sup>[1]</sup>。随着生态农业的发展, $NaHCO_3$  浸提有机磷在植物的养分供应和土壤磷库周转中的作用也成为近几年关注的焦点,因此它的测定也越来越重要<sup>[2~5]</sup>。 $NaHCO_3$  浸提有机磷值是通过浸提液中全磷与无机磷值之差获得,浸提液消煮是必不可少的一步。Brookes 等发现  $NaHCO_3$  浸提液消煮后,加入的<sup>31</sup>P、<sup>32</sup>P 的回收率仅为 85% 和 90%,消煮时间延长后下降至 57% 和 85%。他们认为磷损失主要来自消煮过程中磷的转化和挥发。消煮液中部分磷以气态形式挥发,部分正磷酸盐转化为焦磷酸和偏磷酸盐,使测定值偏低。消煮前添加饱和  $MgCl_2$  溶液,可形成稳定的  $MgHPO_3$ ,防止磷的挥发;消煮后加酸水解可有效减少磷的转化引起的测定损失。这样处理后,磷可完全回收<sup>[6]</sup>。此后,浸提液消煮大多采用消煮前添加饱和  $MgCl_2$  溶液,消煮后再加酸水解的方法<sup>[7,8]</sup>。在预实验时,我们发现添加饱和  $MgCl_2$  溶液后消煮,在消煮后期极易产生崩溅,使测定值偏低,平行不稳定;而且消煮前添加  $MgCl_2$  和消煮后加酸水解使实验步骤繁琐。尽管有人在实验中省略这两个过程,却没有提出理论依据。

本试验选用已知的  $NaHCO_3$  浸提有机磷化合物核酸、苯磷酸钠以及含葡萄糖的无机磷溶液和  $NaHCO_3$  浸提液消煮,以确定消煮过程是否有磷损失,并进一步明确是否可省略消煮前添加饱和  $MgCl_2$  溶液和消煮后加酸水解这两步,简化消煮过程。

## 1 材料与方 法

试验土样采自中国农业大学土壤系实验地,基本性状:pH=8.45,速效磷(P) 7.05mg/kg。取 0~10 cm 表土,风干过 2 mm 筛,用 pH=8.5  $NaHCO_3$  浸提液按水土比 20:1 在 25℃,180 r/min 条件下振荡 30 min,过滤,获得土壤  $NaHCO_3$  提取液。取从农大科学园收获的玉米秸秆,剪碎研磨,过 2 mm 筛,同上处理获得秸秆  $NaHCO_3$  提取液。

收稿日期:2000-04-27

基金项目:国家自然科学基金资助重点项目(49771050)的部分内容。

作者简介:温天雪(1973—),女,重庆市人,硕士,主要从事土壤磷循环研究。

称取一定量的焦磷酸钠、六偏磷酸钠配制成 100mg/kg 左右的水溶液,测定它们的水解效率,检测消煮过程是否有磷的转化;称取一定量的核酸、苯磷酸钠配制成 100mg/kg 左右的水溶液,测定消煮过程中是否有磷的损失;在标准磷酸二氢钾溶液中添加葡萄糖,配制成含葡萄糖 0.5% 和 2% 的磷酸二氢钾溶液,测定消煮过程中是否有磷的挥发。

取土壤、秸秆浸提液与含 P 100mg/kg 的标准磷酸二氢钾按 4:1 混合,配制成浸提混合液,测定消煮过程中,浸提液成分是否会使磷产生损失。

水解:取 5mL 待测液,加入  $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl 溶液 10mL,调节远红外消煮器温度至  $130^\circ\text{C}$  水解。

消煮:消煮剂选用浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  和  $\text{HClO}_4$ 。取 5mL 消煮液,在远红外消煮器上消煮。首先在  $190^\circ\text{C}$  下加热至水分基本蒸发完,然后缓缓升温到  $360\sim 400^\circ\text{C}$  消煮,至少量残余液为止。

所有磷的最后测定均用钼蓝比色法<sup>[9]</sup>,焦磷酸和偏磷酸水解结果为 2 个重复的平均值,其余结果为 4 个重复的平均值,浓度均按溶液中 P 计。试验结果采用 SPSS 软件处理,以比较差异显著性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 焦磷酸和六偏磷酸钠的水解

在  $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl 溶液中焦磷酸钠与六偏磷酸钠随时间的水解变化见图 1。结果表明,焦磷酸钠与六偏磷酸钠的初始水解率均较低,在 30 min 水解率达最大值,终水解率分别为  $(100.0 \pm 0.4)\%$  与  $(89.3 \pm 0.8)\%$ ,焦磷酸钠可完全水解,六偏磷酸钠可水解 90% 左右。可见,假如消煮中存在正磷酸向偏磷酸和焦磷酸的转化,消煮后加酸水解可使全部的焦磷酸和大部分偏磷酸转化为正磷酸。图 1 还显示,六偏磷酸钠和焦磷酸钠的水解在 30 min 左右达最大值,其后保持稳定,因此,水解时间选用 30~140 min 均可,本试验其它部分的水解时间均选用 50 min。

六偏磷酸钠的水解随酸度的增大而增加,消煮明显促进了六偏磷酸钠的水解(表 1),也就是说,消煮中不可能产生磷的转化,因此消煮后无需再加酸水解。

表 1 不同条件下六偏磷酸的水解率

Table 1 Percentage of hydrolysis of metaphosphate under different conditions

消煮液 Digestion solution	水解率 % % of hydrolysis
$0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl	$89.3 \pm 1.0\text{a}$
$2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl	$90.9 \pm 1.5\text{ab}$
$\text{HClO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$	$91.7 \pm 0.8\text{b}$

不同字母表示差异达 5% 显著,下同。

Different letter means significant at  $P < 0.05$  level.

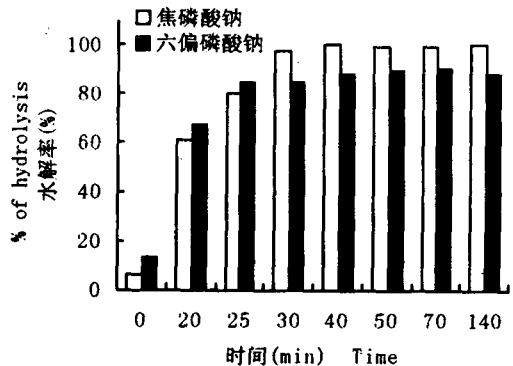


图 1 焦磷酸钠和偏磷酸钠的水解

Fig.1 Hydrolysis of pyrophosphorus and metaphosphorus

### 2.2 有机磷化合物的消煮

$\text{NaHCO}_3$  浸提有机磷大部分是核酸、磷脂和其他磷酸酯类。试验选用核酸和一磷酸酯化合物苯磷酸钠,研究消煮中是否有磷损失。通常浸提液消煮温度为  $210\sim 250^\circ\text{C}$ <sup>[8,10]</sup>,根据焦磷酸、偏磷酸的生成条件<sup>[11]</sup>,我们设定的试验消煮温度同土样消煮温度相近,大于  $350^\circ\text{C}$ ,检测在高温条件下消煮是否有磷的转化和挥发。表 2 表明,2 种有机磷化合物中的磷消

煮后完全回收,消煮后水解与否无明显差异。可见,在高温消煮时,有机磷化合物没有磷的转化和挥发,没有磷损失。

表 2 有机磷化合物中磷的回收率

Table 2 Recovery rate of P in organic compound

有机磷化合物 Organic P compound	核酸 Ribonucleic acid <sup>1)</sup>	苯磷酸钠 Phenylphosphate Na <sub>2</sub> -salz
消煮后加酸水解 Hydrolysis	97.26% ± 0.54% a	100.94% ± 0.80% a
消煮后未水解 Without hydrolysis	97.80% ± 0.61% a	100.90% ± 0.52% a

1) 核酸回收率稍低可能与按核酸试剂标明含磷约为 5% 计算有关。

The lower recovery rate of ribonucleic acid may be related to account with 5% P content indicated in tag of ribonucleic acid reagent.

### 2.3 磷的挥发测定

NaHCO<sub>3</sub> 浸提液中具有还原作用的大多是有机物质,碳水化合物中还原作用最强的是葡萄糖。表 3 表明,葡萄糖的加入并未影响磷的回收,含葡萄糖的无机磷酸盐溶液在消煮中没有磷的挥发损失。Brookes 等<sup>[6]</sup>消煮含<sup>31</sup>P、<sup>32</sup>P 的溶液时,在消煮管上连接一蒸汽回收器。尽管他们在蒸汽回收器中检测到<sup>31</sup>P、<sup>32</sup>P,回收管中<sup>31</sup>P 极可能不是来自挥发,因为钼蓝比色法只能检测正磷酸盐形态磷,而正磷酸盐不可能随蒸汽进入回收器。Snell<sup>[12]</sup>很早以前曾提到只有消煮至于时才会有磷的挥发损失,实际消煮不会到这种程度。

表 3 加入葡萄糖对无机磷溶液消煮的影响

Table 3 The effect of glucose addition on digestion of organic P

项目 Item	0.5% Glu	2% Glu
加入磷量 added P(mg/kg)	50.00	50.00
回收磷量 recovery P(mg/kg)	51.02 ± 0.76	50.21 ± 0.09
回收率 recovery rate(%)	102.04 ± 1.51	100.42 ± 0.29

Glu: 葡萄糖 glucose

### 2.4 不同浸提液中加入的无机磷的回收

上述结果表明有机磷化合物水溶液和含葡萄糖无机磷溶液的消煮均没有磷损失。NaHCO<sub>3</sub> 浸提液与上述溶液不同之处在于浸提液含有大量的有机物质和其他成分。消煮中

表 4 不同浸提液中磷的回收率

Table 4 Recovery rate of P in different extracts

项目 Item	土壤 Soil		秸秆 Straw	
	全磷(mg/kg) Tot. P	加入 P 回收率(%) Recovery rate	全磷(mg/kg) Tot. P	加入 P 回收率(%) Recovery rate
浸提液 Extract	7.05 ± 0.22	—	63.53 ± 3.17	—
未水解 Without hydr. *	25.65 ± 1.42a	100.07a	70.63 ± 2.13a	99.03a
加酸水解 Hydr. *	25.63 ± 1.16a	99.93a	70.70 ± 1.65a	99.36a

这些成分是否会使磷产生损失?

表4表明,虽然秸秆和土壤浸提液所含有机物质不同,但2种浸提液中加入的无机磷消煮后都完全回收,消煮后加酸水解与否无明显差异。可见,消煮中浸提液成分不会使加入的磷产生损失,浸提液中原有的磷与加入的磷受到的影响是一致的,这也间接表明浸提液中磷在消煮中没有损失。因此消煮前添加饱和  $MgCl_2$  溶液,消煮后再加酸水解可以省去,这既不影响  $NaHCO_3$  浸提有机磷的准确测定,又可简化分析步骤。

### 3 小结

- 3.1 消煮促进偏磷酸和焦磷酸的水解,消煮中不可能产生正磷酸向焦磷酸和偏磷酸转化。
- 3.2 无论是有机磷化合物、含葡萄糖无机磷酸盐还是浸提液的消煮均没有磷的挥发和转化,消煮中没有磷损失。
- 3.3 消煮前无需添加饱和  $MgCl_2$  溶液,消煮后也不需再加酸水解,这既不影响  $NaHCO_3$  浸提有机磷的准确测定,又可简化测定步骤。

### 参考文献:

- [1] Clarholm M. Microbial biomass P, labile P and acid phosphatase activity in the humus layer of a spruce forest after repeated additions of fertilizers[J]. *Biol. Fertil. Soils*, 1993, 16:287-292.
- [2] Potter P L *et al.* Assessment of a phosphorus fraction method for soils: problems for further investigation[J]. *Agri. Ecosy. And Environ.*, 1991, 34: 453-463.
- [3] Wright C J and Coleman D C. The effects of disturbance events on labile phosphorus fractions and total organic phosphorus in the southern appalachians[J]. *Soil Sci.*, 1999, 164(6): 391-402.
- [4] Takashi Otani and Noriharu Ae. Extraction of organic phosphorus in Andosols by various methods[J]. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1999, 45(1): 151-161.
- [5] Holford I C R. Soil phosphorus: its measurement and its uptake by plants[J]. *Aust. J. Soil Res.*, 1997, 35:227-239.
- [6] Brookes P C and Powlson D S. Preventing phosphorus losses during perchloric acid digestion of sodium bicarbonate soil extracts[J]. *J. Sci. Food agric.*, 1980, 32: 671-674.
- [7] Zhen Lihe and Jun Zhu. Microbial utilization and transformation of phosphate adsorbed by variable change minerals[J]. *Soil Biol. Biochem.*, 1998,30(7): 917-923.
- [8] Kvo S. Phosphorus[A]. In: Bartels J M and Bigham J M (eds.). *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods* [M]. SSSA Book series No. 5. Soil Science Society of America, Maison, WI. 1996. 869-919.
- [9] Murphy J and Riley J P. A modified single solution method for the determination of phosphorus in vetural waters[J]. *Anal. Chim. Acta*, 1962, 27: 31-36
- [10] Thien S J and Myers R. Determination of bioavailable phosphours in soil[J]. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1992, 56: 814-818.
- [11] 陈寿椿. 重要无机化学反应[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1982. 951-952.
- [12] Snee F D and Sell C T. *Colorimetric Methods of Analysis*[M]. Chapman and Hill Ltd. 1936. 1, 498.

## Study on the measurment of organic phosphorus in sodium bicarbonate extracts

WEN Tian-xue<sup>1</sup>, ZHANG Bao-gui<sup>1</sup>, HAO Feng-wu<sup>2</sup>

(1 College of Resou. and Envir. Science, CAU 100094, China; 2 Hebei TV Univ., Shijiazhuang 050071, China)

**Abstract:** Whether there were losses of P during digestion by volatilisation of orthophosphate or formation of metaphosphate and pyrophosphate was studied. The necessity of hydrolysis and additon of saturated  $MgCl_2$  was discussed. The quantities of inorganic phosphorus after digestion and hydrolysis of pyrophosphate and metaphosphate, organic phosphate, two extracts and inorganic phosphate containing glucose were measured. The results showed that hydrolysis of pyrophosphate and metaphosphate was enhanced during digestion. There were no P losses during digestion. It's not necessary to add saturated  $MgCl_2$  before digestion and hydrolyze after digestion.

**Key words:**  $NaHCO_3$  extracts; organic phosphorus; digestion; volatilisation; conversion