

# 羟胺浸提 可见分光光度法测定土壤无定形铁

迟光宇<sup>1, 2</sup>, 张兆伟<sup>3</sup>, 陈 欣<sup>1\*</sup>, 史 奕<sup>1</sup>

1 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 辽宁 沈阳 110016

2 中国科学院研究生院, 北京 100039

3 沈阳农业大学, 辽宁 沈阳 110161

**摘要** 采用羟胺浸提 可见分光光度法测定了土壤无定形铁。与草酸 草酸铵浸提法相比, 羟胺浸提法排除磁性铁矿物的干扰, 克服了原方法实验结果偏高的缺点。该法相对标准偏差 RSD< 2 0%, 回收率为 97. 5% ~ 101. 5%, 实验的精密度稍好于草酸 草酸铵法, 且具有快速、简便、显色时间短等特点。同时进行了土壤厌氧恒温培养实验, 结果显示铁还原启动期、快速期和稳定期的还原速率分别为 0. 030~0. 053 g·d<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>, 0. 186~0. 333 g·d<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup> 和 0. 015~0. 030 g·d<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>。回归分析结果表明, 羟胺浸提法测定结果与土壤培养实验中测得的快速期铁还原速率显著相关( $r=0.9907$ ,  $p<0.01$ ), 说明在浸提土壤无定形铁的过程中, 羟胺法比草酸 草酸铵法具有更好的选择性。

**关键词** 可见分光光度法; 土壤无定形铁; 草酸 草酸铵浸提法; 羟胺浸提法

中图分类号: S3 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)12-2931-04

## 引言

土壤无定形铁是游离氧化铁中活性较高的部分, 具有很大的比表面积, 对土壤的各项理化性质, 尤其是阴阳离子的专性吸附及稳定土壤结构都起着十分重要的作用, 因此, 对土壤铁的研究中无定形铁是一项重要的土壤理化指标<sup>[1]</sup>。土壤无定形铁的测定, 现行较为先进、适用的实验方法主要是可见分光光度法<sup>[2]</sup>。采用分光光度法测定土壤无定形铁, 首先必须将其从土壤中分离出来, 目前普遍运用的浸提方法是草酸 草酸铵法<sup>[2]</sup>。但由于土壤中的氧化铁组成复杂, 采取草酸 草酸铵方法获得的无定形铁含量受到很多因素的影响。早在上世纪 60~70 年代就有人提出<sup>[3-7]</sup>, 在酸性草酸溶液浸提土壤无定形铁过程中, 部分晶体铁有可能溶解, 使测量结果偏高。也曾有人采用过 EDTA、试钛灵和乙酰乙脂等作为提取液浸提无定形铁, 但这些方法后来也被证明选择性差, 浸提过程中会溶蚀部分晶体铁甚至层状硅酸盐铁<sup>[8, 9]</sup>。基于上述分析, 本文改进了部分学者<sup>[10, 11]</sup>曾提出的以羟胺作为浸提液的设想, 采用羟胺浸提 可见分光光度法测定土壤无定形铁, 并结合土壤厌氧恒温培养实验, 与草酸 草酸铵 可见分光光度法进行了对比, 旨在为进一步完善土壤无定形铁的测定方法提供科学依据。

收稿日期: 2007-06-02, 修订日期: 2007-09-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(40801133)和中日国际合作项目(06GHZ11001)资助

作者简介: 迟光宇, 1976 年生, 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室助理研究员

\* 通讯联系人 e-mail: chenxin@iae.ac.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

## 1 实验部分

### 1.1 供试土壤

供试土壤采自中国科学院三江平原沼泽湿地生态试验站, 包括四种土地利用方式, 分别为沼泽化草甸、天然林地、水田、旱田, 土壤类型为沼泽土。采用荷兰 Eijkelkamp 公司 PVC 衬管土钻采集 0~10 cm 耕层土壤, 自然风干, 磨细, 分别过 1 和 0.25 mm 筛, 封装备用。供试土壤基本理化指标见表 1。

Table 1 Basic properties of soil samples

试样	土地利用类型	全铁 / (g·kg <sup>-1</sup> )	游离铁 / (g·kg <sup>-1</sup> )	pH (H <sub>2</sub> O)	有机质 / %
土样 1	沼泽	20.65	8.06	5.36	8.84
土样 2	林地	30.76	10.05	5.55	13.83
土样 3	水田	30.21	15.40	5.65	4.47
土样 4	旱田	31.87	11.46	5.73	2.50

### 1.2 主要仪器和试剂

A naltkjena AG 型紫外-可见分光光度计(德国耶拿分析仪器股份有限公司; 波长范围 190~1100 nm, 光度计准确

性  $0.003 \text{ A} @ \text{A} = 1$ , 光度计重现  $\pm 0.0003 \text{ A} @ \text{A} = 1$ ; TDL-40B 型台式离心机(上海硕光电子科技有限公司; 最大转速  $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ); 868 型精密酸度计(美国奥立龙公司; 量程  $0.00 \sim 14.00 \text{ pH}$ ); EYELA 恒温箱(日本东京理化器械公司; 温度调节精度  $\pm 0.1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ); BT224S 电子分析天平(德国赛多利斯公司; 量程  $0.1 \text{ mg} \sim 220 \text{ g}$ )。

羟胺、邻菲罗啉、盐酸、草酸、草酸铵、乙酸钠均为 A.R., 天津市科密欧化学试剂公司生产。

### 1.3 样品的处理与测定

#### 1.3.1 羟胺浸提实验

称取过  $0.25 \text{ mm}$  筛的土样  $0.5000 \text{ g}$  于烧杯中, 加入  $25 \text{ mL } 0.50 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸溶液和  $25 \text{ mL } 0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸羟胺, 轻轻搅拌  $30 \text{ s}$ , 每个样品重复 5 份。 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温放置  $1 \text{ h}$  后, 用孔径为  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜过滤。准确移取  $10 \text{ mL}$  滤液于  $50 \text{ mL}$  容量瓶中, 稀释定容。从上述  $50 \text{ mL}$  容量瓶中, 取一定体积的提取液(含铁  $0.03 \sim 0.2 \text{ mg}$ ), 移入  $50 \text{ mL}$  容量瓶中, 加入  $1.00 \text{ mL } 100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸羟胺溶液, 摆匀, 放置数 min, 使  $\text{Fe(III)}$  全部还原为  $\text{Fe(II)}$ , 再用  $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  乙酸钠溶液将 pH 调至  $3 \sim 6$ 。而后加入  $5.00 \text{ mL } 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  邻菲罗啉显色剂, 混匀定容后, 室温  $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  放置使其充分显色。在分光光度计上, 以试剂空白为参比, 选用  $520 \text{ nm}$  波长进行比色测定溶液中铁含量, 同时做方法的加标回收实验。

#### 1.3.2 土壤培养实验

称取  $40.0000 \text{ g}$  过  $1 \text{ mm}$  筛的土样, 置于  $200 \text{ mL}$  的玻璃瓶中, 按水土比为  $1:1$  补加去离子水, 充氮排氧后加盖密封, 置于  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温箱中厌氧培养。在培养的第二天起每天采样测定培养液中  $\text{Fe(II)}$  浓度。每次采样前先将土壤悬液摇匀, 用自动加样器取  $0.40 \text{ mL}$  土壤悬液于  $10 \text{ mL}$  刻度试管中, 加入  $4.60 \text{ mL } 0.50 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸, 每个样品重复 3 次。

室温下静置浸提  $24 \text{ h}$  后, 用一次性注射器将浸提液吸出, 用针筒式滤膜过滤器(内置  $0.22 \mu\text{m}$  孔径滤膜)过滤, 收集滤液, 用于测定  $\text{Fe(II)}$  浓度,  $\text{Fe(II)}$  浓度同样采用邻菲罗啉分光光度法测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 显色时间的选择

草酸-草酸铵浸提时由于  $\text{Fe(II)}$  处于被草酸根络合的状态, 与邻菲罗啉的显色时间较长, 需  $24 \text{ h}$  吸光度才达到稳定<sup>[2-12]</sup>。而采用羟胺浸提 可见分光光度法测定土壤无定形铁时, 浸提液显色时间较短,  $30 \text{ min}$  内吸光度即可达到稳定。

### 2.2 样品分析

表 2 为可见分光光度法测定的土样无定形铁含量, 对比草酸-草酸铵浸提法可以看出, 羟胺提取液中的土壤无定形含量略低。分析原因, 这可能是草酸-草酸铵浸提土壤的过程中, 无定形铁被浸提出来的同时, 以磁性矿物( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )及  $\text{FePO}_4$  为代表的结晶态铁也可能部分溶解<sup>[13]</sup>, 浸提出的铁其实已不只是无定形铁。磁性实验也表明<sup>[14]</sup>, 即使在室温  $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  时, 也有少量的磁性矿物被破坏而进入草酸-草酸铵缓冲液; 且随着温度的升高, 土壤磁性矿物的溶解量还会迅速增加。文献[15]建议在用酸性草酸铵浸提无形铁时, 应先除去磁性铁矿物。由表 2 可以看出, 本实验方法的精密度稍好于草酸-草酸铵法(相对标准偏差  $\text{RSD} < 2.0$ )。

### 2.3 方法的加标回收实验

本方法的加标回收实验如表 3 所示, 回收率为  $97.5\% \sim 101.5\%$ , 结果令人满意。

Table 2 Determination results of amorphous iron oxides in soil samples

试样	羟胺浸提法			草酸-草酸铵浸提法		
	测定值/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	平均值/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	RSD/%	测定值/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	平均值/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	RSD/%
土样 1	2.56, 2.63, 2.54, 2.57, 2.65	2.59	1.9	2.82, 2.71, 2.66, 2.77, 2.79	2.75	2.4
土样 2	3.97, 4.05, 3.96, 3.98, 3.94	3.98	1.1	4.31, 4.25, 4.18, 4.16, 4.15	4.21	1.4
土样 3	4.72, 4.82, 4.81, 4.70, 4.75	4.76	1.2	5.02, 5.05, 4.86, 4.88, 4.99	4.96	1.7
土样 4	3.83, 3.92, 3.89, 3.82, 3.79	3.85	1.4	4.15, 3.98, 4.11, 4.06, 4.05	4.07	1.6

Table 3 Results of recovery test of soil samples

试样	原样测定值/ $(\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	标准加入量/ $(\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	测定总量/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$					回收率/%	
			1	2	3	4	5		
土样 1	1.30	2.00	3.25	3.26	3.28	3.18	3.32	3.21	97.5
土样 2	1.99	2.00	4.02	4.12	4.06	4.01	3.96	3.95	101.5
土样 3	2.38	2.00	4.37	4.39	4.38	4.42	4.27	4.39	99.5
土样 4	1.93	2.00	3.88	3.99	3.89	3.81	3.85	3.86	97.5

### 2.4 土壤培养实验

无定形铁是土壤铁中最为活跃的部分, 在土壤淹水状态下, 土壤中无定形铁会首先被还原为  $\text{Fe(II)}$ , 且还原速度较快。因此在土壤淹水培养过程中, 土壤快速还原阶段的铁还原速率可以在某种程度上反应土壤中无定形铁含量。

如图 1(a) 所示, 土样厌氧培养过程中  $\text{Fe(II)}$  生成量随培养时间变化的曲线属于典型的对数曲线型, 具有微生物介导生物学过程的明显特征。土壤中  $\text{Fe(II)}$  浓度一般要经历缓慢变化、快速增长、逐渐稳定的过程, 可用“启动期”、“快速期”和“稳定期”表示。启动期主要指微生物变化过程的启动,

与土壤中微生物种类和数量、及  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  等其他电子受体的含量有关; 快速期指土壤中氧化铁还原反应的快速阶段, 主要与土壤易还原氧化铁的数量有关, 快速期铁还原反应速率可反映不同土壤中氧化铁的还原潜势, 即易还原的无定形铁的数量; 稳定期主要指土壤中的晶体氧化铁缓慢还原期,  $\text{Fe(II)}$  主要来自部分弱晶质铁的还原<sup>[16]</sup>。

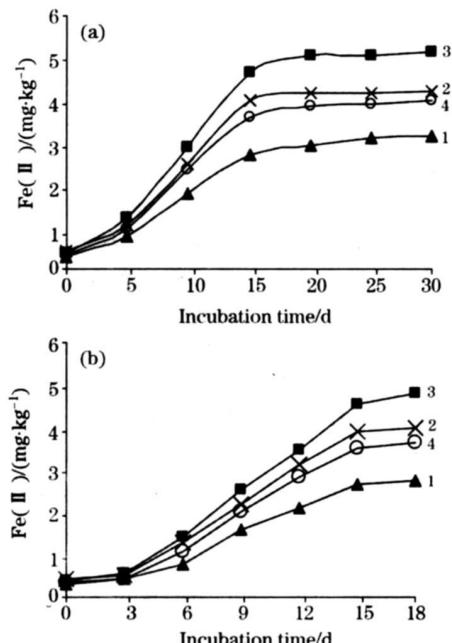


Fig 1 Variation of ferrous concentration with time  
the incubation of four soil samples

1~4: 土样 1~4

Table 4 Iron reduction rate in the incubation of soil samples

试样	铁还原速率/(g·d <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> )		
	启动期(0~3 d)	快速期(3~15 d)	稳定期(15~30 d)
土样 1	0.033	0.186	0.028
土样 2	0.023	0.281	0.015
土样 3	0.053	0.333	0.030
土样 4	0.030	0.255	0.025

结合图 1(b) 及表 4 可以看出, 在厌氧培养 3 d 后, 培养液中  $\text{Fe(II)}$  才大量增加, 而到 15 d 左右时,  $\text{Fe(II)}$  增加速率减慢, 曲线区域平稳, 由此可以认为, 3~15 d 为土样快速还原反应期。将羟胺及草酸-草酸铵提取的无定形铁含量分别与快速期内铁还原速率进行相关分析, 表明羟胺浸提法测定结果与铁还原速率相关系数较高( $r = 0.9907$ ,  $p < 0.01$ ), 这再次说明在浸提土壤无定形铁的过程中, 羟胺法比草酸-草酸铵法具有更好的选择性。

### 3 结 论

采用羟胺浸提可见分光光度法测定土壤无定形铁, 与草酸-草酸铵浸提法相比, 羟胺法排除了磁性铁矿物的干扰, 克服了后者实验结果偏高的缺点。该方法相对标准偏差 RSD < 2.0%, 回收率为 97.5%~101.5%, 实验的精密度稍好于后者, 且具有操作简便、显色时间短等特点。此外, 羟胺浸提法测定结果与土壤培养实验中“快速期”的铁还原速率显著相关( $r = 0.9907$ ,  $p < 0.01$ ), 表明在浸提土壤无定形铁的过程中, 羟胺法比草酸-草酸铵法具有更好的选择性。因此采用可见分光光度法测定土壤无定形铁时, 羟胺法在一定条件下可以代替草酸-草酸铵浸提法。

### 参 考 文 献

- [1] SUN Zhen ya, DU Jianhua, CHEN He sheng, et al(孙振亚, 杜建华, 陈和生, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1226.
- [2] LU Ru kun(鲁如坤). Analysis Methods of Soil Agricultural Chemistry(土壤农业化学分析方法). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press(北京: 中国农业科技出版社), 2000. 65.
- [3] McKeague J A, Brydon J E, Miles M M. Soil Science Society of America Journal, 1971, 35: 33.
- [4] McKeague J A, Day J H. Canadian Journal of Soil Science, 1966, 46: 13.
- [5] Pawluk S. Canadian Journal of Soil Science, 1972, 52: 119.
- [6] Schwertmann U. Canadian Journal of Soil Science, 1973, 53: 244.
- [7] Schwertmann U. Clays and Clay Minerals, 1974, 10: 289.
- [8] Borggaard O K. Soil Science, 1976, 274: 78.
- [9] Loiselle A, Massiera A M, Sainani U R. Canadian Geotechnical Journal, 1971, 8: 479.
- [10] Chao T T, Zhou L. Soil Science Society of America Journal, 1983, 47: 225.
- [11] Lovley D R, Elizabeth J P. Phillips. Applied and Environmental Microbiology, 1987, 53(7): 1536.
- [12] FANG Yi wen, NI Wei xi, HUANG Chong, et al(方奕文, 倪文秀, 黄 , 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1303.
- [13] Borggaard O K. Journal of Soil Science, 1979, 30: 727.
- [14] PAN Zhui, HU Xue feng, YE Rong, et al(潘 贽, 胡雪峰, 叶 荣, 等). Chinese Journal of Soil Science(土壤通报), 2006, 37(6): 1188.
- [15] Walker A L. Soil Science Society of America Journal, 1983, 47: 1022.
- [16] QU Dong, HE Jiang zhou, SUN Li rong(曲 东, 贺江舟, 孙丽蓉). Journal of Northwest Sci Tech University of Agriculture and Forestry(Natural Science Edition)(西北农林科技大学学报·自然科学版), 2005, 33(4): 97.

# Determination of Amorphous Iron Oxides in Soil by Hydroxylamine Extraction Spectrophotometry

CHI Guangyu<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhaowei<sup>3</sup>, CHEN Xin<sup>1\*</sup>, SHI Yi<sup>1</sup>

1. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

3. Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China

**Abstract** Amorphous iron oxides in soil were determined by hydroxylamine extraction spectrophotometry. The results showed that hydroxylamine extraction eliminates interference of magnetite and the defect of results being on the high side was overcome to a certain degree compared with oxalic acid oxalic acid ammonium extraction. The hydroxylamine extraction spectrophotometry for the detection of amorphous iron oxides in soil was highly precise (relative standard deviation was less than 2.0%) and highly reliable (recovery rates ranged from 97.5% to 101.5%). Other advantages of the method were rapidness, simplicity and a shorter chromogenic time. In addition, soil incubated anaerobically at constant temperature under laboratory condition was investigated. The results suggested that iron reduction rates during initiation, rapid reaction and steady phases in the soil samples anaerobic incubation were 0.030–0.053, 0.186–0.333 and 0.015–0.030 g·d<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>, respectively. Significant relationship between the concentrations of hydroxylamine extraction iron and iron reduction rates during rapid reaction phase in soil incubation ( $r=0.9907$ ,  $p<0.01$ ) indicated that hydroxylamine had a higher degree of selectivity in amorphous iron oxides extraction than oxalic acid oxalic acid ammonium extraction.

**Keywords** Spectrophotometry; Amorphous iron oxides in soil; Oxalic acid oxalic acid ammonium extraction; Hydroxylamine extraction

(Received Jun. 2, 2007; accepted Sep. 6, 2007)

\* Corresponding author