

重铬酸钾氧化-分光光度法 测定土壤有机碳含量的研究

田云飞*, 安俊芳, 陶士敏

(江苏国测检测技术有限公司检测分析部, 江苏 昆山 215300)

摘要:采用重铬酸钾氧化-分光光度法对影响土壤有机碳含量的测定进行了研究, 得知测定有机碳含量的最佳加热温度是140℃, 加热时间是40 min, 测试波长是589 nm, 显色时间是0 min。然后对这些最佳条件进行了方法验证, 计算出方法检出限为0.03%, 相对标准偏差为0.8%~3.8%, 加标回收率为101%~116%。与滴定法和重量法相比, 重铬酸钾氧化-分光光度法具有更高的精密性和准确性。

关键词:土壤; 有机碳; 方法检出限; 精密性; 准确度

中图分类号: O635

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2020)04-0231-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2020.04.049

Determination of organic carbon content in soil by potassium dichromate oxidation-spectrophotometry

TIAN Yun-fei*, AN Jun-fang, TAO Shi-min

(Detection and Analysis Division, Jiangsu Guoce Testing Technology Co., Ltd., Kunshan 215300, China)

Abstract: Potassium dichromate oxidation-spectrophotometry method is used to determine the content of organic carbon in soil. It is found that the optimum heating temperature for determining the content of organic carbon is 140℃, heating time is 40 min, testing wavelength is 589 nm, and color rendering time is 0 min. The optimum conditions are then performed for method validation. It is obtained through calculation that the detection limit is 0.03%, the relative standard deviation is 0.8%~3.8%, and the recovery is 101%~116%. Compared with titration method and gravimetric method, the potassium dichromate oxidation-spectrophotometry method shows higher precision and accuracy.

Key words: soil; organic carbon; detection limit; precision; accuracy

目前生物圈中最大的有机碳库是土壤有机碳库, 它在全球碳循环中起着关键的作用^[1-2]。土壤有机碳含量是反映土壤肥力的关键因素, 可以认识到土壤肥力情况, 指导培肥和改土, 它不仅影响农业的可持续发展^[3-4], 而且对全国固碳减排具有重要意义^[5]。

Rawls等^[6]研究得知土壤持水量与有机碳含量的关系受质地组分比例的影响; 蔡婷等^[7]研究得知有机碳含量与多芳香烃的残留总量存在着正相关关系; 柳沈辉等^[8]研究表明, 有机碳含量会促进嘉宝果地上部生长量与叶绿素含量的增加; 牛宋芳等^[9]研究表明, 土壤有机碳含量与土壤的颗粒构成与沙堆大小存在着一定的相关性; 冯锦等^[10]和吴燕飞等^[11]研究表明, 土壤全氮、阳离子交换量与有机碳含量具有正相关性, 土壤pH、容重与有机碳含量具有负相关性。由此可见, 作为评估土壤品质关键指标的土壤有机碳含量, 其变化会对土壤的物理、化学

和生物学特征产生明显的影响。

提高土壤碳汇是解决全球气候变暖的有效手段, 作为土壤碳汇来源之一的有机碳起着关键影响, 土壤有机碳的稳定是生态系统的独特特征^[12]。查阅相关文献报道, 土壤有机碳含量的测定主要有滴定法和重量法2种^[13], 比如Stanislaw等^[13]用滴定法和重量法研究有机碳含量的测定, Cécile等^[14]用高光谱遥感和野外可见-近红外光谱预测土壤有机碳, 然而采用分光光度法测定有机碳含量却没有文献报道。因此, 本文中采用重铬酸钾氧化-分光光度法对土壤有机碳含量测定进行了研究, 探讨了影响土壤有机碳含量测定的几种因素, 通过实验了解土壤有机碳的测定原理。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

硫酸(AR)、硫酸汞(AR)、重铬酸钾(PT)、葡萄

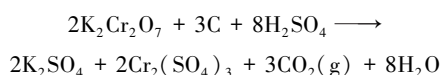
收稿日期: 2019-07-27; 修回日期: 2020-02-11

作者简介: 田云飞(1992-), 男, 硕士, 研究方向为分析化学, 通讯联系人, 1328480196@qq.com。

糖(AR);FA1004 电子天平(宁波市鄞州华丰电子仪器厂)、BHW-09C20 恒温加热器(上海博通化学科技有限公司)、TDZ5-WS 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)、UV-1800 紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)。

1.2 实验原理

在高温和强酸的存在下,土壤中的有机碳成分被过量的重铬酸钾溶液和硫酸溶液氧化,使 $K_2Cr_2O_7$ 中的 Cr^{6+} 被还原成 Cr^{3+} ,而 Cr^{3+} 含量与土壤中有有机碳含量正相关,在某一波长处测定吸光度,按照 Cr^{3+} 的含量计算有机碳的含量。过程化学反应原理如下:



1.3 实验步骤

1.3.1 校准曲线的绘制

准备 6 支 50 mL 具塞消解玻璃管,依次准确加入 0.00、0.50、1.00、2.00、4.00、6.00 mL 葡萄糖标准使用液(10.00 g/L),然后分别加入 0.1 g $HgSO_4$ 和 5.00 mL $K_2Cr_2O_7$ 溶液,混合,继续慢慢小心加入 7.5 mL 浓硫酸溶液(注意防止浓硫酸沸腾而飞溅),轻轻混匀。最后放入恒温加热器中,设置加热温度为 135℃,加热时间为 30 min。加热结束冷却至室温,分别倒入 100 mL 比色管中,并用纯水清洗 50 mL 具塞消解玻璃管至少 3 次,全部倒入 100 mL 比色管中,再用纯水定容至 100 mL 刻度线,混匀。最后在测试波长 585 nm 处,用 10 mm 比色皿,以水为参比,分别测定吸光度。有机碳校准曲线操作步骤如图 1 流程所示。

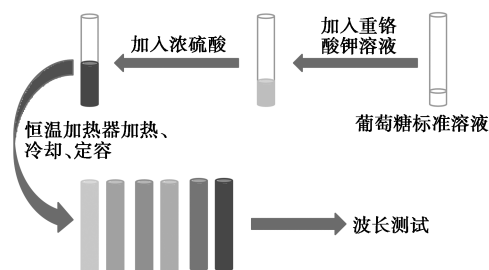


图 1 有机碳校准曲线流程

1.3.2 试样测定

在 50 mL 具塞消解玻璃管中加入已知质量的土样(10 目),根据 1.3.1 的操作步骤依次加入试剂,进行加热、冷却和定容。然后取适量溶液倒入 100 mL 离心管中,以 2 000 r/min 离心分离 10 min,

最后取离心后的溶液测定吸光度。同时在具塞消解玻璃管中不加入土样做空白实验。

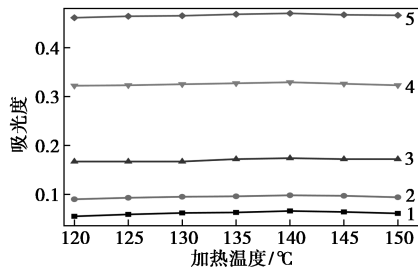
2 结果与讨论

2.1 加热温度和加热时间

为了探讨加热温度对有机碳含量测定的影响,分别采用 0.50、1.00、2.00、4.00、6.00 mL 葡萄糖标准使用液做实验,即有机碳质量分别为 2.00、4.00、8.00、16.0、24.0 mg。设置温度分别是 120、125、130、135、140、145、150℃,对应的其他条件是加热时间 30 min,585 nm 波长测试,立即显色测试。测定结果如图 2(a)所示,随着加热温度的增加,有机碳含量也随之增加,当达到 140℃时,有机碳含量达到最大,而后随着加热温度的增加,有机碳含量在减少。当达不到加热温度时,由于有机碳氧化不充分,会使被还原的 Cr^{3+} 含量偏低,从而导致检测出的有机碳含量也偏低,而当加热温度过高时,原本被还原的 Cr^{3+} 会由于高温和硫酸的存在而被氧化成 Cr^{6+} ,也导致检测出的有机碳含量偏低,因此最佳加热温度是 140℃。

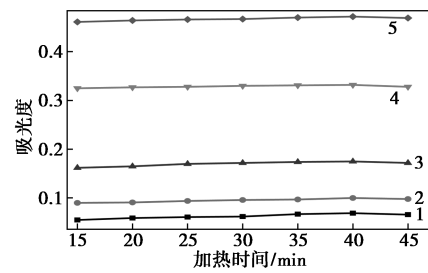
然后继续探讨加热时间对有机碳含量测定的影响,同样用 2.00、4.00、8.00、16.0、24.0 mg 有机碳质量做实验。设置加热时间分别是 15、20、25、30、35、40、45 min,对应的其他条件是加热温度 140℃,585 nm 波长测试,立即显色测试。测定结果如图 2(b)所示,随着加热时间的增加,有机碳含量也随之增加,当达到 40 min 时,有机碳含量达到最大,而后随着加热时间的增加,有机碳含量在减少。这种变化的趋势跟加热温度的影响很相似,由于加热时间不够,有机碳氧化不充分或者加热时间过长,原本被还原的 Cr^{3+} 会由于高温和硫酸的存在而被氧化成 Cr^{6+} ,都会导致检测出的有机碳含量偏低,因此最佳加热时间是 40 min。

橙色 6 价铬与绿色 3 价铬之间的转化可以用图 2(c)形象地描述出来,图 2(c)左边是橙色的 $K_2Cr_2O_7$ 晶体结构,属于三斜晶系,空间群是 $P-1(2)$,每个 Cr 原子与临近 4 个氧原子形成配位四面体。图 2(c)右边是绿色的 $Cr_2(SO_4)_3$ 晶体结构,属于三方晶系,空间群是 $R-3(148)$,每个 Cr 原子与临近 6 个氧原子形成配位八面体。在高温和强酸存在下,橙色 Cr^{6+} 被有机碳还原成绿色 Cr^{3+} ,而当加热温度过高或加热时间过长时,绿色 Cr^{3+} 又被氧化成橙色 Cr^{6+} 。



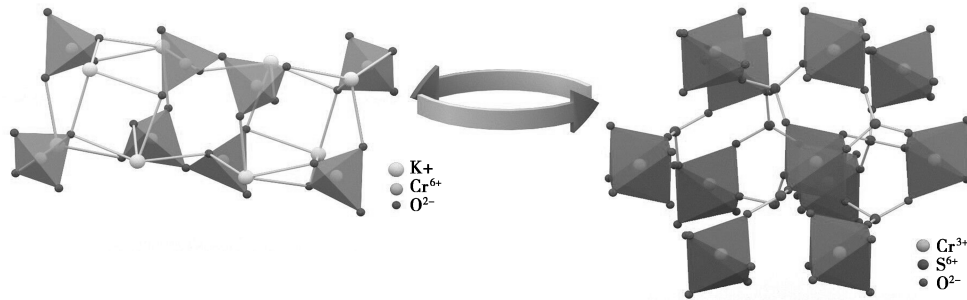
1—2.00 mg; 2—4.00 mg; 3—8.00 mg; 4—16.0 mg; 5—24.0 mg

(a) 不同加热温度下的有机碳吸光度值



1—2.00 mg; 2—4.00 mg; 3—8.00 mg; 4—16.0 mg; 5—24.0 mg

(b) 不同加热时间下的有机碳吸光度值



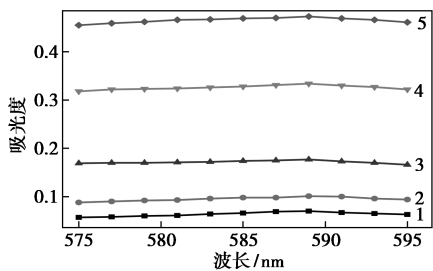
(c) Cr⁶⁺ 与 Cr³⁺ 之间的转化

图 2 加热温度和加热时间对有机碳含量测定的影响及 Cr⁶⁺ 与 Cr³⁺ 之间的转化机理

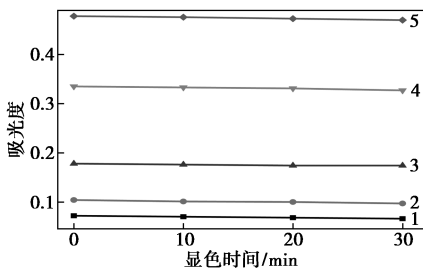
2.2 测试波长和显色时间

为了探讨测试有机碳含量的最佳波长,同样用 2.00、4.00、8.00、16.0、24.0 mg 的有机碳质量,设置测试波长分别是 575、579、581、583、585、587、589、

591、593、595 nm,对应的其他条件是加热温度 140℃,加热时间 40 min,立即显色测试。测定结果如图 3(a)所示,随着测试波长的增加,有机碳含量也随之增加,当达到 589 nm 时,有机碳含量达到最大,而后随着测试波长的增加,有机碳含量在减少,因此最佳测试波长是 589 nm。



(a) 不同测试波长下的有机碳吸光度值



(b) 不同显色时间下的有机碳吸光度值

1—2.00 mg; 2—4.00 mg; 3—8.00 mg; 4—16.0 mg; 5—24.0 mg

图 3 测试波长和显色时间对有机碳含量测定的影响

继续探讨测试有机碳含量的最佳显色时间,同样用 2.00、4.00、8.00、16.0、24.0 mg 的有机碳质量,设置显色时间分别是 0、10、20、30 min,对应的其他条件是加热温度 140℃,加热时间 40 min,测试波长 589 nm。测定结果如图 3(b)所示,随着显色时间的增加,有机碳含量在不断减少,很有可能是因为 3 价铬氧化成 6 价铬所致,因此最佳显色时间是立即显色。

3 方法验证

为了验证上述最佳条件实验方法的可靠性,对样品的前处理、测量的精密度、准确度进行了方法验证^[15-16]。

3.1 校准曲线

按照 1.3.1 校准曲线的操作步骤,绘制了校准曲线如图 4 和表 1,校准曲线为 $y = 0.0188x + 0.0044$,相关系数为 0.9995,符合实验要求。

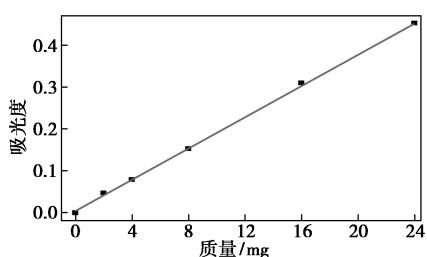


图 4 土壤有机碳校准曲线

表 1 土壤有机碳校准曲线

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 含量/mg | 0.00 | 2.00 | 4.00 | 8.00 | 16.0 | 24.0 |
| 吸光度 1 | 0.025 | 0.071 | 0.102 | 0.179 | 0.343 | 0.450 |
| 吸光度 2 | 0.025 | 0.072 | 0.104 | 0.178 | 0.344 | 0.476 |
| 吸光度 3 | 0.026 | 0.072 | 0.106 | 0.178 | 0.342 | 0.478 |
| 平均吸光度 | 0.025 | 0.072 | 0.104 | 0.178 | 0.335 | 0.478 |
| 减去空白后吸光度 | 0.000 | 0.047 | 0.079 | 0.153 | 0.310 | 0.453 |
| 工作曲线 | $y = 0.0188x + 0.0044$ | | | | | |
| 相关系数 | $R^2 = 0.9995$ | | | | | |

3.2 方法检出限和定量下限

按照 1.3.2 试样测定的操作步骤,做了 7 个实验,根据美国 EPA SW-846 规定,加标平行测定 7 次,分别以 $MDL = 3.143 \times S$, $RQL = 4MDL$ 计算出方

法检出限 MDL 和方法定量下限 RQL 如表 2 所示,方法检出限 MDL 为 0.03%,方法定量下限 RQL 为 0.12%。

表 2 土壤有机碳方法检出限 MDL 和方法定量下限 RQL

| 测定次数 | 吸光度 | 减去空白后吸光度 | 检测值/% |
|------|-------|----------|-------|
| 1 | 0.051 | 0.026 | 0.31 |
| 2 | 0.053 | 0.028 | 0.33 |
| 3 | 0.053 | 0.028 | 0.34 |
| 4 | 0.052 | 0.027 | 0.32 |
| 5 | 0.051 | 0.026 | 0.31 |
| 6 | 0.052 | 0.027 | 0.32 |
| 7 | 0.052 | 0.027 | 0.32 |
| 标准偏差 | — | — | 0.011 |
| MDL | — | — | 0.03 |
| RQL | — | — | 0.12 |

3.3 精密度

按照试样同样测定的操作步骤,做了 18 个实验,分别配制 3 个不同浓度的含量 1 样品、含量 2 样品及含量 3 样品,做 6 次平行实验得到精密度,结果如表 3 所示,3 个不同含量样品的相对标准偏差分别是 3.8%、0.8%、1.5%,均满足实验质量控制要求。

表 3 土壤有机碳精密度

| 测定次数 | 含量 1 样品 | | | 含量 2 样品 | | | 含量 3 样品 | | |
|----------|---------|---------|-------|---------|---------|-------|---------|---------|-------|
| | 吸光度 | 减去空白吸光度 | 检测值/% | 吸光度 | 减去空白吸光度 | 检测值/% | 吸光度 | 减去空白吸光度 | 检测值/% |
| 1 | 0.051 | 0.026 | 0.31 | 0.154 | 0.129 | 1.69 | 0.120 | 0.095 | 1.25 |
| 2 | 0.053 | 0.028 | 0.33 | 0.154 | 0.129 | 1.69 | 0.124 | 0.099 | 1.26 |
| 3 | 0.053 | 0.028 | 0.34 | 0.153 | 0.128 | 1.66 | 0.116 | 0.091 | 1.22 |
| 4 | 0.052 | 0.027 | 0.32 | 0.150 | 0.125 | 1.68 | 0.121 | 0.096 | 1.26 |
| 5 | 0.051 | 0.026 | 0.31 | 0.151 | 0.126 | 1.67 | 0.117 | 0.092 | 1.22 |
| 6 | 0.052 | 0.027 | 0.32 | 0.150 | 0.125 | 1.67 | 0.121 | 0.096 | 1.25 |
| 均值/% | — | — | 0.32 | — | — | 1.68 | — | — | 1.24 |
| 标准偏差/% | 0.012 | | | 0.013 | | | 0.019 | | |
| 相对标准偏差/% | 3.8 | | | 0.8 | | | 1.5 | | |

3.4 准确度

按照试样同样测定的操作步骤,依旧做了 18 个实验,分别在空白中加入一定量标准溶液,并配制成

3 个不同浓度、各 6 个样品,结果如表 4 所示,3 个不同加标含量样品的加标回收率分别是 116%、101%、103%,均满足实验质量控制要求。

表4 土壤有机碳准确度

| 测定次数 | 含量1样品 | | | 含量2样品 | | | 含量3样品 | | |
|---------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|
| | 吸光度 | 减去空白吸光度 | 检测值/mg | 吸光度 | 减去空白吸光度 | 检测值/mg | 吸光度 | 减去空白吸光度 | 检测值/mg |
| 1 | 0.138 | 0.113 | 5.86 | 0.203 | 0.178 | 9.34 | 0.363 | 0.338 | 17.9 |
| 2 | 0.138 | 0.113 | 5.86 | 0.205 | 0.180 | 9.44 | 0.359 | 0.334 | 17.7 |
| 3 | 0.138 | 0.113 | 5.86 | 0.203 | 0.178 | 9.34 | 0.358 | 0.3331 | 17.6 |
| 4 | 0.140 | 0.115 | 5.97 | 0.202 | 0.177 | 9.28 | 0.360 | 0.335 | 17.7 |
| 5 | 0.139 | 0.114 | 5.91 | 0.203 | 0.178 | 9.34 | 0.360 | 0.335 | 17.7 |
| 6 | 0.140 | 0.115 | 5.97 | 0.204 | 0.179 | 9.39 | 0.363 | 0.338 | 17.9 |
| 平均吸光度/% | — | — | 5.90 | — | — | 9.36 | — | — | 17.8 |
| 加标量/mg | | 4.00 | | | 8.00 | | | 16.0 | |
| 加标回收率/% | | 116 | | | 101 | | | 103 | |

通过校准曲线、方法检出限和定量下限、精密度及准确度的数据可知,按照加热温度 140℃,加热时间 40 min,测试波长 589 nm,显色时间 0 min 的条件测定有机碳含量,满足实验质量控制要求。

4 结论

用重铬酸钾氧化-分光光度法研究影响土壤有机碳含量测定的几种因素,研究结果表明,测定有机碳含量的最佳加热温度是 140℃,加热时间是 40 min,测试波长是 589 nm,显色时间是 0 min。然后进行方法验证,最终结果表明,校准曲线、方法检出限、精密度和准确度均满足实验质量控制要求。与滴定法和重量法相比,重铬酸钾氧化-分光光度法因具备校准曲线和加标的质量控制手段,以及依靠仪器测试避免人为主观误差,而具有更高的精密性和准确性。

参考文献

- [1] Qiu L F, Zhu J X, Zhu Y H, *et al.* Land use changes induced soil organic carbon variations in agricultural soils of Fuyang County, China[J]. *J Soils Sediments*, 2013, 13: 981-988.
- [2] Tarnocai C, Canadell J G, Schuur E A G, *et al.* Soil organic carbon pools in the northern circumpolar permafrost region[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2009, 23: 1-11.
- [3] Ala R. Enhancing crop yields in the developing countries through restoration of the soil organic carbon pool in agricultural lands[J]. *Land Degrad Develop*, 2006, 17: 197-209.
- [4] Su Y Z, Wang F, Suo D R, *et al.* Long-term effect of fertilizer and manure application on soil-carbon sequestration and soil fertility

under the wheat-wheat-maize cropping system in northwest China [J]. *Nutr Cycl Agroecosyst*, 2006, 75: 285-295.

- [5] Chris J, Claire M, Kevin C, *et al.* Global climate change and soil carbon stocks; predictions from two contrasting models for the turnover of organic carbon in soil[J]. *Global Change Biology*, 2004, 10: 1-13.
- [6] Rawls W J, Pachepsky Y A, Ritchie J C, *et al.* Effect of soil organic carbon on soil water retention[J]. *Geoderma*, 2003, 116: 61-76.
- [7] 蔡婷, 张枝焕, 王新伟, 等. 有机碳含量对土壤剖面中多环芳烃纵向迁移的影响[J]. *环境科学学报*, 2019, 39(3): 880-890.
- [8] 柳沈辉, 伍俊为, 黄裕钧, 等. 有机碳对嘉宝果地上部生长和叶绿素含量的影响[J]. *亚热带农业研究*, 2018, 14(3): 177-180.
- [9] 牛宋芳, 刘秉儒, 王利娟. 土壤粒径及有机碳特征对灌丛沙堆发育阶段的影响研究[J]. *土壤通报*, 2017, 48(5): 1032-1038.
- [10] 冯锦, 崔东, 孙国军, 等. 新疆土壤有机碳与土壤理化性质的相关性[J]. *草业科学*, 2017, 34(4): 692-697.
- [11] 吴燕飞, 季宏兵, 储华硕, 等. 黔东南施秉白云岩上覆土壤剖面理化特征与土壤有机碳含量关系研究[J]. *地球与环境*, 2017, 45(3): 267-276.
- [12] 徐嘉晖, 孙颖, 高雷, 等. 土壤有机碳稳定性影响因素的研究进展[J]. *中国生态农业学报*, 2018, 26(2): 222-230.
- [13] Stanislaw J K, David S J. A comparative study of titrimetric and gravimetric methods for the determination of organic carbon in soil [J]. *J Sci Fd Agric*, 1973, 24: 1085-1090.
- [14] Cécile G, Raphael A V R, Alex B M. Soil organic carbon prediction by hyperspectral remote sensing and field vis-NIR spectroscopy: An Australian case study[J]. *Geoderma*, 2008, 146: 403-411.
- [15] 侯雪, 郑卫东, 胡莉, 等. 浅析化学检测实验室的方法确认和方法验证[J]. *实验室研究与探索*, 2016, 35(2): 255-258, 294.
- [16] 任春华, 亢卫民, 罗惠明, 等. 测量方法确认技术及其指标评价[J]. *理化检验: 化学分册*, 2006, 42(8): 677-681. ■