

# 基于常规土壤有效磷 (Olsen 法) 分析的高效测试技术研究

杨俐苹, 白由路, 王 磊, 王 贺, 卢艳丽

(农业部作物营养与施肥重点实验室, 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081)

**摘 要:** 提高常规方法土壤测试的效率是我国测土配方施肥亟待解决的技术问题。通过 30 个有代表性的土样研究了与现代化测试技术手段相应的土壤有效磷 (Olsen-P) 的分析过程的改进和提高, 结果显示: 700 nm 波长比色测定土壤有效磷比 882 nm 波长测定有显著正偏差, 土壤有效磷的比色测定应该用 882 nm 波长以消除土壤可溶有机质影响; 改进的钼锑抗显色剂 10 min 可稳定显色, 大大缩短了比色测定需要等待的时间, 且测定结果与原有测定过程测定结果一致。同时改进的显色剂稳定时间长, 24 h 的测定结果和 10 min 测定结果没有差异。土壤有效磷测定显色过程采用稀释加液器和比色测定中采用泵吸式进样器, 可以大大提高土壤测试效率。

**关键词:** 土壤有效磷; 土壤测试; 测试效率

中图分类号: S151.9<sup>+5</sup> 文献标识码: A 文章编号: 1673-6257 (2011) 03-0087-05

土壤有效磷是重要的土壤肥力指标之一, 也是作物磷肥施用的基本指标, 一般测定土壤浸提溶液中有有效磷含量, 可以快速了解土壤有效磷素状况, 可见土壤有效磷素测定是获得作物最佳产量推荐施肥的基础。碳酸氢钠法 (Olsen 法) 是浸提土壤有效磷最经典、传统的方法, 研究证明该方法与作物对磷肥的反应相关性好, 在我国被作为常规土壤测试方法被采用, 该方法是 1954 年 Olsen 等人提出的, 适合弱酸性到碱性 pH 范围的土壤。在浸提过程中, CO<sub>2</sub> 被从碳酸氢根中去除, pH 值增加, 碳酸氢根转化成碳酸根, 由于碳酸钙的形成使钙的活性降低, 使某些活性较大的磷酸钙盐被浸提出来, 同时也可使活性磷酸铁、铝盐水解而被浸提出来。浸提液中的磷不致次生沉淀, 可用钼锑抗比色法定量。

提高测土推荐施肥中土壤测试效率是土壤肥料工作者一直以来孜孜以求的目标, 随着现代分析手段和技术的发展, 在土壤分析中需要应用新的技术手段提高土壤测试效率和准确性。而我国现有常规方法<sup>[1-2]</sup> 分析过程仍然采用普通分析器皿如移液管、容量瓶以及常规比色计或分光光度计等分析仪器设备以及手工操作模式, 人为误差大, 分析手段落后, 使用的溶液量大, 浪费试剂。因此需要研究使

用现代化的分析手段如稀释加液器<sup>[3]</sup> 和泵吸式进样器等新技术后相应的土壤分析过程的调整和改进, 从而提高测土配方施肥的时效性和准确性。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试土壤

采集自全国的 pH 值范围在 4.4 ~ 8.5 的 30 个土样, 包括黑土、草甸土、白浆土、棕壤、潮土、黄棕壤、黄褐土、褐土、砂姜黑土、红壤、水稻土、砖红壤等。其碳酸盐含量 0% ~ 7.9%, 有机质含量范围 5.95 ~ 56.35 g/kg, 基本代表了我国耕地的主要土壤类型。

### 1.2 主要分析仪器

稀释加液器, 分光光度计, 泵吸式进样器。

### 1.3 试剂和溶液 (以下实验用水皆为去离子水)

#### 1.3.1 氢氧化钠溶液 NaOH = 100 g/L

称取 10.0 g 氢氧化钠溶于 100 mL 水中。

#### 1.3.2 碳酸氢钠浸提剂 NaHCO<sub>3</sub> = 0.50 mol/L, pH = 8.5

称取 42.0 g 碳酸氢钠溶于约 800 mL 水中, 用 100 g/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 8.5, 用水稀释至 1 L。贮存于聚乙烯瓶或玻璃瓶中备用。如贮存时间超过 20 d, 使用时必须检查并重新校准 pH。

#### 1.3.3 改进的钼锑抗显色剂

A 试剂:

①钼酸铵溶液: 溶解 12.0 g 钼酸铵于 250 mL 的水中;

②酒石酸氧锑钾溶液: 溶解 0.291 g 分析纯酒

收稿日期: 2010-09-10; 最后修订日期: 2011-02-17

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2008BADA4B01)。

作者简介: 杨俐苹 (1964-), 女, 重庆人, 博士, 研究员, 主要从事土壤、植物分析和养分高效利用研究。

石酸氧锶钾于 100 mL 水中;

③把上述两种已溶解的试剂加到 1 000 mL 5.76 mol/L  $H_2SO_4$  中 (浓硫酸 160 mL/L), 混匀并定容 2 000 mL, 即得试剂 A。此试剂放在不透明塑料瓶中可以存放至少 4 个月。

B 试剂:

钼锑抗显色剂: 每 100 mL 试剂 A 溶解 0.53 g 分析纯抗坏血酸, 混匀即可。(该试剂注意应在测定当天根据测定的样品量配制)

#### 1.3.4 磷 (P) 标准溶液的配制

1.3.4.1 1 000 mg/L 磷标准储备液 称取 105℃ 烘至恒重的磷酸二氢钾 4.394 g, 溶于约 500 mL 水中, 加入浓盐酸 5 mL, 转入 1 L 容量瓶, 用水定容。此储备溶液可以长期保存。

1.3.4.2 100 mg/L 磷标准储备液 从 1 000 mg/L 的磷储备液里吸取 10 mL 用水定容至 100 mL 的容量瓶里。其浓度为 100 mg/L 的磷溶液。此储备溶液可以比较长期保存。

1.3.4.3 磷标准系列工作溶液 [ $\rho(P) = 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 2.00, 4.00$  mg/L]

从浓度为 100 mg/L 的磷溶液里吸取 0、0.25、0.50、0.75、1.00、2.00、4.00 mL 的溶液分别放入 100 mL 的容量瓶, 用碳酸氢钠浸提剂定容至刻度。此磷标准系列工作溶液不宜久存。

#### 1.4 土壤有效磷测定步骤

##### 1.4.1 土壤有效磷的浸提

用 (2.5 g) 量样器量取通过 2.0 mm 的风干样品, 放入 75 mL 样品杯中, 称重 (精确到 0.01 g)。用浸提剂加液器 (每次可同时加入 3 个样品杯) 准确加入 (25 ± 1) °C 的碳酸氢钠浸提剂 50 mL; 摇匀后盖紧杯盖, 在频率为 (180 ± 20) r/min 的恒温 (25°C) 振荡机上振荡 30 min, 振荡后拿出, 摇匀后

立即用无磷滤纸过滤到对应联体样品杯中。

##### 1.4.2 土壤有效磷的测定

用专用稀释加液器同时吸取 3 mL 的滤液, 3 mL 的显色剂, 9 mL 的水放入联体样品杯中, 摇匀排出气泡, 放置 10 min 后在分光光度计 882 nm 处比色测定。同时将上述浓度为 0、0.25、0.50、0.75、1.00、2.00、4.00 mg/L 的磷系列标液以同样步骤显色, 用浸提剂 (磷系列标液浓度 0 mg/L) 调节分光光度计零点 (或透光率 100%), 比色测定吸光度 A 或透光率 T。根据磷标准曲线的直线回归方程计算样品磷含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤有效磷测定比色波长调整后的测定效果

磷酸根与钼酸铵反应生成的钼蓝溶液的颜色深浅与溶液中的含磷量呈正比, 在 Olsen 法研发之初, 比色测定磷含量时推荐使用红色滤光片 (光电比色计) 或红光波长段 660 ~ 700 nm (分光光度计) 测定。由于碳酸氢钠土壤浸提溶液多数都带有一定颜色, 660 ~ 700 nm 波长附近比色测定土壤有效磷受土壤可溶有机质影响而使结果偏高, 常规测定中多数采用活性炭吸附以消除颜色干扰, 但操作步骤繁琐, 且容易带来二次污染。有研究表明 882 nm 波长测定效果更好<sup>[4]</sup>, 因为在此波长可以消除土壤可溶有机质在 660 ~ 700 nm 波长比色时产生的干扰。该波长已被美国多数土壤实验室有效磷比色测定采用。为了验证两个波长的测定效果, 研究比较了 30 个土样 700 nm 和 882 nm 测定值差异 (图 1), 结果显示多数土壤上 700 nm 波长时有效磷的测定结果高于 882 nm 波长, 产生一定的正偏差。因此, 土壤有效磷的比色测定应该用 882 nm 波长, 使用该波长可以减少浸提过程中采用活性炭吸附颜色干扰的步骤。

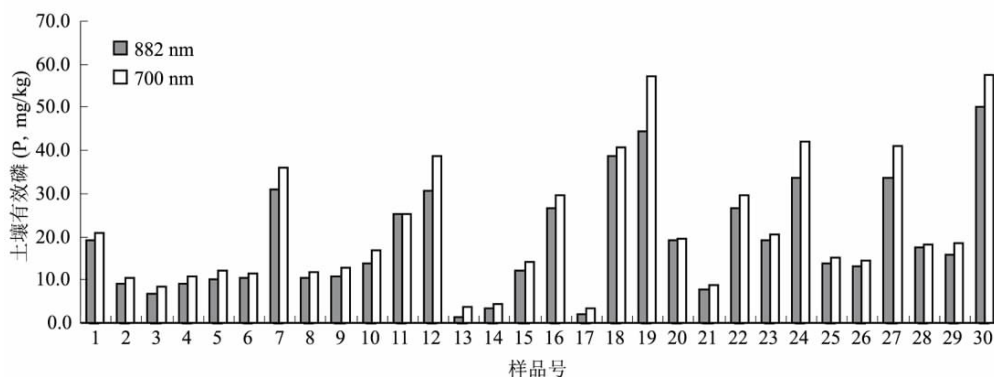


图 1 不同比色波长测定对土壤有效磷含量的影响

## 2.2 土壤有效磷测定新的操作模式的应用效果

为了提高土壤测试效率,国家测土施肥中心实验室研究人员研制了一系列土壤测试设备。其中稀释加液器 2V-3S (国家实用新型专利,专利号: ZL 200420118140.0) 在磷的测定中提高土壤测试效率显著<sup>[3]</sup>。本研究进一步比较了按照新的《土壤分析技术规范》<sup>[1]</sup>和采用稀释加液器按照本文材料与方法中的批量化操作步骤的测定结果和所需要时间的差异,结果显示,二者土壤有效磷测定值显著相关,基本没有差异(图 2),而且由于采用稀释加液器加液显色和泵吸式进样器(国家发明专利,专利号: ZL200410088976.5) 比色测定,大大节省了测定时间。33 个样品加液显色和比色测定只需要大约 20 min,而采取手工加液定容和普通分光光度计比色测定同样数量的样品,同一个熟练的实验员操作,至少需要 200 min。泵吸式进样器的相关原理参见《高效土壤养分测试技术与设备》<sup>[5]</sup>。可见土壤有效磷测定过程中采用稀释加液器和泵吸式进样器,显著提高了土壤测定速度,以该批量化操作的土壤有效磷测试时间只需要传统常规手工操作测试时间的 1/10。且人为误差减小,测定准确性提高。

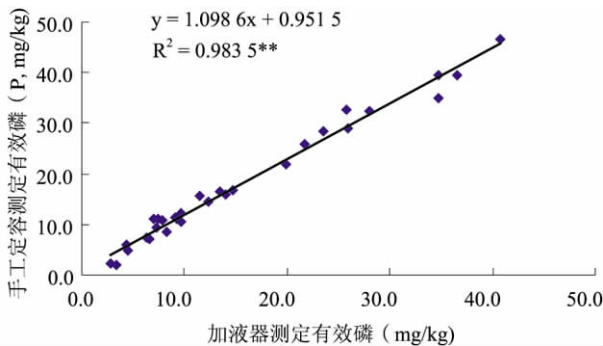


图2 批量化加液器操作和传统手工操作模式的土壤有效磷测试结果的相关性

## 2.3 土壤有效磷测定显色剂的改进效果

为了适应批量化测试操作的需要,经查阅国外最新资讯<sup>[4,6,7]</sup>和大量研究,选择了新的钼锑抗显色剂(见材料与方法)。研究比较了国家测土施肥中心实验室的 3 个参比样品(S4 黑土, S5 潮土, S6 红壤)重复取土样 10 次在不同时间的测定结果,结果显示,改进的钼锑抗显色剂显色稳定时间短,只需要 10 min 即显色稳定,可以开始测定。而原方法显色时间需要 30 min 才能开始测定。且改进的显

色剂显色持续稳定时间长, 10 min ~ 24 h 不同时间同一浸提液土壤有效磷测定值的相对标准偏差 RSD 最大值 1.74%, 小于 10 次重复之间的相对标准偏差 RSD (最大 3.36%)。可见显色 24 h 测定结果和显色 10 min 结果没有差异(表 1)。研究表明该改进的钼锑抗显色剂值得在土壤有效磷测定中推荐应用。

## 3 讨论与结论

现代科学的发展和科技进步给土壤测试技术的发展提供了许多机遇,更多的发展即将到来<sup>[6]</sup>。许多新的仪器设备的研发如电感耦合等离子体光谱仪(ICP)、离子色谱仪等使多元素的同时测定成为可能,从而减少了分析时间。发达国家土壤测试已经向多元素联合浸提剂的方向发展。稀释加液器、分光光度计泵吸式进样器、原子吸收自动进样器、连续流动分析等技术发展和改进大大提高了实验人员的工作效率,从而使土壤测试实验室的效率得到提高。此外,计算机技术以及其它一些电子技术的进步使土壤测试实验室的数据采集、处理过程更加快捷,同时减少了数据输入、处理产生的误差<sup>[8,9]</sup>。我国现阶段虽然考虑到与土壤测试历史数据的衔接以及多数地区的技术发展水平限制等因素,现有常规土壤测试方法仍然采用以单一元素浸提为基础的测试方法,但是利用现代科学和技术进步,积极采用准确性高,同时工作效率也高的分析技术,提高土壤测试的效率和准确性已经势在必行。只有提高我国测土配方施肥中土壤测试效率和准确性,才能真正做到测土推荐施肥不误农时,充分发挥测土配方施肥指导农民合理施肥、增产、增收和保护环境的作用。

本文提出的基于常规土壤有效磷(Olsen 法)分析的高效测试技术是我国常规土壤测试方法的技术改进,通过将磷比色测定的波长从原有红光段比色波长(660~700 nm)调整为 882 nm 波长,可以消除土壤可溶有机质颜色的影响,减少了加活性炭的测定步骤。同时应用改进的钼锑抗显色剂,大大缩短显色稳定需要的时间且显色持续稳定时间长,可见改进的钼锑抗显色剂可以在土壤有效磷测定中推荐应用。在土壤有效磷测定过程中显色采用稀释加液器、比色采用泵吸进样器等技术,可以大大提高土壤测试效率。

表1 改进的钼锑抗显色剂的稳定性

样品 编号	有效磷 (mg/kg)								平均值	标准差	RSD (%)
	显色时间										
	10 min	30 min	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h			
S4-1	28.2	28.1	28.4	28.4	28.8	28.6	28.5	28.9	28.5	0.28	0.97
S4-2	28.9	28.9	29.1	28.9	29.3	29.2	28.1	28.6	29.0	0.23	0.81
S4-3	28.7	28.9	28.9	29.4	29.2	29.1	29.2	29.1	29.1	0.20	0.67
S4-4	27.8	27.9	28.0	28.1	28.0	28.0	28.1	28.2	28.0	0.12	0.44
S4-5	29.1	29.3	29.2	29.9	29.4	29.3	29.5	29.2	29.4	0.23	0.78
S4-6	29.0	29.4	29.3	30.0	29.5	29.4	30.3	29.2	29.5	0.40	1.37
S4-7	27.1	27.0	27.2	27.8	27.3	27.4	28.4	27.9	27.5	0.46	1.69
S4-8	27.7	27.8	27.8	28.6	28.0	28.0	28.0	28.2	28.0	0.27	0.98
S4-9	29.0	29.1	29.1	29.9	29.3	29.3	30.4	29.9	29.5	0.48	1.62
S4-10	28.7	28.9	28.9	29.6	29.1	28.9	29.0	29.4	29.1	0.27	0.93
平均值	28.4	28.5	28.6	29.0	28.8	28.7	29.0	28.8	—	—	—
标准差	0.68	0.73	0.68	0.75	0.70	0.67	0.79	0.59	—	—	—
RSD (%)	2.39	2.55	2.36	2.59	2.43	2.32	2.74	2.05	—	—	—
S5-1	23.9	23.9	24.4	24.7	24.5	24.8	24.5	24.5	24.4	0.35	1.41
S5-2	24.0	24.1	24.4	24.8	24.6	24.9	24.5	24.8	24.5	0.33	1.36
S5-3	25.9	26.0	26.1	26.6	26.3	26.6	26.1	26.5	26.3	0.29	1.12
S5-4	24.0	24.1	24.3	24.8	24.4	24.7	24.4	24.7	24.4	0.29	1.21
S5-5	24.7	24.9	25.0	25.5	25.2	25.5	25.1	25.5	25.2	0.30	1.18
S5-6	24.0	24.0	24.2	24.8	24.4	24.7	24.4	24.8	24.4	0.33	1.36
S5-7	23.9	24.0	24.1	24.7	24.3	24.6	24.3	24.8	24.4	0.34	1.38
S5-8	23.6	24.1	23.9	24.4	24.0	24.4	24.0	24.5	24.1	0.29	1.19
S5-9	24.7	24.7	24.8	25.4	25.1	25.4	25.1	25.4	25.1	0.30	1.21
S5-10	23.7	23.8	24.4	24.4	24.0	24.4	24.0	24.4	24.1	0.30	1.24
平均值	24.2	24.4	24.6	25.0	24.7	25.0	24.6	25.0	—	—	—
标准差	0.64	0.63	0.61	0.65	0.65	0.63	0.62	0.61	—	—	—
RSD (%)	2.65	2.59	2.48	2.58	2.65	2.52	2.53	2.46	—	—	—
S6-1	35.3	35.3	35.9	36.5	35.9	35.8	35.9	36.0	35.8	0.38	1.05
S6-2	33.4	33.5	33.7	34.1	33.5	33.4	33.6	32.7	33.5	0.37	1.12
S6-3	34.4	34.4	34.8	35.0	34.5	33.8	33.8	33.8	34.3	0.48	1.40
S6-4	33.8	34.1	34.1	34.5	33.9	34.0	34.1	33.3	34.0	0.35	1.04
S6-5	33.5	33.7	33.8	34.1	33.5	33.6	33.5	32.1	33.5	0.58	1.74
S6-6	33.1	33.2	33.4	33.8	33.3	33.2	33.6	32.2	33.2	0.46	1.38
S6-7	34.9	34.9	35.2	35.5	34.9	34.6	33.5	34.6	34.8	0.59	1.70
S6-8	34.5	34.9	35.0	35.3	34.8	34.6	34.7	34.2	34.8	0.31	0.89
S6-9	34.4	34.8	34.8	35.3	34.8	34.8	33.9	34.1	34.6	0.43	1.24
S6-10	34.4	34.6	34.7	35.2	34.6	34.3	33.3	34.5	34.4	0.53	1.54
平均值	34.2	34.3	34.5	34.9	34.4	34.2	34.0	33.8	—	—	—
标准差	0.67	0.66	0.72	0.77	0.76	0.75	0.74	1.13	—	—	—
RSD (%)	1.95	1.92	2.10	2.21	2.22	2.19	2.17	3.36	—	—	—

注: 不同时间3个土样10次重复有效磷测定结果。

## 参考文献:

- [1] 全国农业技术推广服务中心. 土壤分析技术规范 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006. 54-56.
- [2] 中国土壤学会, 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 179-181.
- [3] 杨俐苹, 自由路. 改变传统化验操作模式, 提高测土配方施肥效率 [J]. 土壤通报, 2009, (9): 1151-1155.
- [4] Rodriguez J B, Self J R, Soltanpour P N. Optimal conditions for phosphorus analysis by the ascorbic acid - molybdenum blue method [J]. Soil Sci Soc. Am. J, 1994, 58: 866-870.
- [5] 金继运, 自由路, 杨俐苹. 高效土壤养分测试技术与设备 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006. 24-42.
- [6] Gavlak R, Horneck D, Miller R O, et al. Soil, plant, and water reference methods for the western region ( WCC - 103 Publication. WREP - 125, 2nd Edition) [M]. USA: Oregon State University, 2003.
- [7] Brown J R. Recommended chemical soil test procedures for the North Central Region ( North Central Regional Research, Publication No. 221) [M]. USA: Missouri Agricultural Experiment Station, 1998.
- [8] 杨俐苹, 自由路. 土壤测试实验室数据自动采集处理与推荐施肥系统 [J]. 中国土壤与肥料, 2008, (4): 65-68, 72.
- [9] Havlin J L, Jacobsen J S. Soil testing: prospects for improving nutrient recommendations ( Special Publication Number 40) [M]. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America ( SSSA ), 1994.

**Study on the method of determining available phosphorus ( Olsen-P) with high testing efficiency**

YANG Li-ping, BAI You-lu, WANG Lei, WANG He, LU Yan-li ( Ministry of Agriculture Key Laboratory of Crop Nutrition and Fertilization, Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** Improve efficiency of Chinese traditional soil testing method is eager to be solved in soil testing and fertilizer recommendation action. It was studied that technical advances and adjustment of the method applying in the determination of available phosphorus ( Olsen-P) with modern testing technology. Research using 30 soil samples indicated that amount of high bias associated with the 700 nm relative to the 882 nm wavelength was highly soil dependent. The 882 nm wavelength was superior and did not have a soil soluble organic interference that was noted for the 700 nm wavelength. Thus it was suggested that using the 882 nm wavelength for all bicarbonate soil extracts to avoid a high bias. The modified ascorbic acid-molybdenum blue method improved the soil testing efficiency. The absorbance could be read after 10 minutes of adding the modified phosphor-molybdenum blue reagent and the readings could be stable during 24 h. The results showed there were no differences of the revised method with the old procedure and reagent. Soil testing efficiency was highly improved by using the specialized dilute-dispenser for adding soil extract, the reagent and deionized water and measuring the absorbance by the pumping-injected spectrophotometer.

**Key words:** soil available P; Olsen-P; soil testing; efficiency

## [上接第34页]

results indicated that flue-cured tobacco dry matter accumulation had "slow-fast-slow" style under three fertilizer structures, the peak of dry matter accumulation rate appeared between 60 ~ 75 d after transplanting, dry matter accumulation accounted for over 90 percent after 90 days transplanting. At the same period, the order of the dry matter accumulation was organic and mineral fertilizer combined application treatment > only organic fertilizer application treatment > no fertilizer application treatment. Under no fertilizer application condition, dry matter in roots, stems and leaves accounted for whole dry matter 14.4%, 34.6% and 51.0%, respectively. The percentage was 17.5%, 30.1% and 52.4% under only organic fertilizer application. While the percentage changed into 15.9% ~ 17.1%, 33.9% ~ 34.6% and 49.0% ~ 50.3% under organic and mineral fertilizer combined conditions. Compared with other organic and mineral combined treatments, dry matter of treatment with ratio of N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O = 1:1.5:3 increased by 5.3 ~ 27.3 percent. And its dry matter in roots, stems and leaves accounted for 16.74%, 34.35% and 48.91% respectively.

**Key words:** flue-cured tobacco; fertilization; dry matter; accumulation; distribution