

于汀汀, 朱云, 郭琳, 等. 溴酚蓝作酸碱指示剂分光光度法测定土壤中有效磷[J]. 岩矿测试, 2023, 42(1): 213-219.

YU Tingting, ZHU Yun, GUO Lin, et al. Spectrophotometric Determination of Available Phosphorus in Soil with Bromophenol Blue as an Acid-base Indicator[J]. Rock and Mineral Analysis, 2023, 42(1): 213-219.

【DOI: 10.15898/j.cnki.11-2131/td.202203190056】

溴酚蓝作酸碱指示剂分光光度法测定土壤中有效磷

于汀汀, 朱云, 郭琳*

(国家地质实验测试中心, 北京 100037)

摘要: 测定土壤中有效磷的标准方法及通用方法, 通常采用酸或碱溶液浸提样品, 调节浸提液 pH 值后用分光光度法测定。该方法过滤操作繁琐、酸碱指示剂二硝基酚颜色易受溶液底色干扰且有毒。对现有方法进行优化创新, 提高检测效率, 对土壤有效态分析及土壤质量评价具有重要意义。本文比较了不同浸提时间、不同浸提液酸度、不同酸碱指示剂等实验条件对检测结果的影响; 采用离心分离代替过滤, 使用溴酚蓝作指示剂调节 pH。同时对比了溴酚蓝指示剂与标准方法的二硝基酚指示剂的检测结果, 吸光度、标准物质准确度、未知样品检测结果均完全一致。研究表明使用溴酚蓝作酸碱指示剂, 颜色突变更明显, 不易受待测液底色影响, 毒性低, 测试数据准确。实验条件优化后的方法适用于酸性、中性及石灰性土壤有效磷的快速测定。

关键词: 土壤; 有效磷; 分光光度法; 酸碱指示剂; 二硝基酚; 溴酚蓝; 条件优化

要点:

- (1) 使用溴酚蓝作为土壤中有效磷测定方法的酸碱指示剂。
- (2) 溴酚蓝作指示剂颜色突变更明显, 效果优于标准方法所用的二硝基酚。
- (3) 浸提时间、土液比、浸提液酸度等影响测定结果。

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

土壤矿物中能够被作物直接吸收利用的部分, 即有效量, 以活动态存在于土壤中^[1-2]。元素对环境或生物体产生的效应或毒性, 在很大程度上取决于其各形态含量, 而不是总浓度^[3-4]。土壤微量元素有效量不但影响作物的生长发育, 而且影响作物品质和产量^[5-8]。因此元素的形态、有效态分析越来越受到研究人员的重视^[9-10]。通过土壤有效磷的测定, 有助于了解土壤供应磷的情况, 为合理使用磷肥及提高磷肥利用率提供依据^[11-13]。通常所谓的土壤有效磷是指某一特定形态的磷, 只是一个相对指标, 但是其可用于说明土壤的供磷水平^[14-15]。

目前, 测定土壤有效磷的方法主要有 Olsen 法和 Bray 法^[16]。Olsen 法用碳酸氢钠溶液浸提土壤, Bray 法用氟化铵-盐酸溶液浸提土壤。方法原理是

浸提土壤后, 分取浸提液加入显色剂, 使用分光光度法测定浸提液中的磷含量。其中 Bray 法对酸性土壤效果良好, Olsen 法对中性及石灰性土壤效果好^[17]。现行标准方法《土壤检测 第 7 部分 土壤有效磷的测定》(NY/T 1121.7—2014) 和《森林土壤磷的测定》(LY/T 1232—2015) 中 Olsen 法和 Bray 法的应用存在参数差异^[18], 主要差异在于酸性土壤的浸提时间、振荡温度等。目前常用的土壤有效态标准样品中, ASA1-6 (GBW07412)、NSA1-6 是依据 GB/T 7853—1987 定值, ASA1a 至 ASA6a、ASA-7 至 ASA-10 是依据 NY/T 1121.7—2006 定值 (GB/T 7853—1987、NY/T 1121.7—2006 分别已被 LY/T 1232—2015、NY/T 1121.7—2014 替代)。已有文献报道了使用电感耦合等离子体发射光谱法 (ICP-

收稿日期: 2022-03-19; 修回日期: 2022-05-07; 接受日期: 2022-06-25

基金项目: 中国地质科学院基本科研业务费项目 (CSJ-2021-03X); 国家地质实验测试中心结余经费项目 (JYQF-2022-02)

第一作者: 于汀汀, 硕士, 工程师, 从事地质样品的无机成分分析研究。E-mail: yutingting4770@outlook.com。

通信作者: 郭琳, 高级工程师, 从事地质样品主量痕量成分分析研究。E-mail: 2981053993@qq.com。

OES)测定浸提液中的有效磷^[19-22],由于ICP-OES测定磷的灵敏度低,检出限高,达不到部分土壤样品的有效磷含量,因此分光光度法仍是测定土壤中有有效磷的最优选择。该技术存在以下问题:①现有测定方法需浸提后过滤得到澄清待测液,过滤操作繁琐,且有些土壤沉淀颗粒细,极易穿透滤纸,速度慢效率低。②浸提液显色前必须先将pH调至指定值,再加钼锑抗显色剂才能发生特定显色反应。且该方法常使用二硝基酚(变色范围为无色pH 2.4~4.0黄色)作指示剂,由黄色调至恰变浅黄,而土壤浸提液多略带黄色的底色,尤其是有机质含量高的土壤,浸提滤液易呈现黄或褐色^[23-25],导致调pH时颜色无法判断;且二硝基酚属于易制爆试剂,毒性强^[26]。

针对以上问题,本文采用离心分离代替过滤;比较了不同浸提时间、不同浸提液酸度、不同酸碱指示剂等实验条件对检测结果的影响;使用溴酚蓝作指示剂调节pH,对比了溴酚蓝指示剂与标准方法的二硝基酚指示剂的检测结果。拟通过对现有方法进行优化创新,提高检测效率。

1 实验部分

1.1 仪器及工作条件

分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司,型号T9CS),离心机(天津广丰科技有限公司,型号TD6M),恒温振荡培养箱(苏州培英实验设备有限公司,型号HZQ-X100)。

1.2 材料和主要试剂

磷标准溶液 1000mg/L(国家有色金属及电子材料分析测试中心)。

溴酚蓝指示剂:称取0.20g溴酚蓝溶于100mL乙醇中。

盐酸(北京化学试剂研究所,BⅧ级);盐酸(国药集团化学试剂有限公司,光谱纯);氟化铵(Strem Chemicals,ACS);氟化铵(上海麦克林生化科技有限公司,ACS)。

酸性土壤:土壤有效态成分分析标准样品GBW07416、GBW07412(中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所);未知样A(野外采集,测定pH<6.5)。

中性及石灰性土壤:土壤有效态成分分析标准样品GBW07413、GBW07414、GBW07414a(中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所);未知样B(野外采集,测定pH>6.5)。

其他试剂参考标准方法《土壤检测 第7部分土壤有效磷的测定》(NY/T 1121.7—2014)配制,均采用市售分析纯。

1.3 实验条件

参考标准方法《土壤检测 第7部分土壤有效磷的测定》(NY/T 1121.7—2014)。

酸性土壤:①待测液的制备:称取酸性土壤5.00g于200mL塑料浸提瓶中,加氟化铵(0.03mol/L)-盐酸(0.025mol/L)浸提液50.0mL,25℃以160r/min恒温振荡60min后,5000r/min离心5min。②移取上清液10mL于50mL比色管中,加入5.00mL硼酸(30g/L),加水,加入溴酚蓝指示剂2滴,用2mol/L盐酸和2mol/L氨水调节至试液刚呈黄色。③测定:加5.00mL钼锑抗显色剂,定容至50mL,摇匀,25℃以上放置30min后用分光光度计在700nm或880nm处进行吸光度测定,绘制标准曲线,计算出待测样品中有效磷含量。

中性或石灰性土壤:①待测液的制备:称取中性或石灰性土壤2.50g于200mL塑料浸提瓶中,加50.0mL碳酸氢钠浸提液(42g/L),25℃以160r/min恒温振荡30min后,5000r/min离心5min。②移取上清液10mL于50mL比色管中,加入溴酚蓝指示剂2滴,用0.5mol/L硫酸调节至试液刚呈黄色。③测定:加5.00mL钼锑抗显色剂,定容至50mL,摇匀,25℃以上放置30min后用分光光度计在700nm或880nm处进行吸光度测定,绘制标准曲线,计算出待测样品中有效磷含量。

2 结果与讨论

2.1 酸性土壤浸提时间及土水比实验结果

用土壤有效态国家标准物质GBW07416开展条件实验,改变酸性土壤浸提时间及水土比,其他条件参考标准方法《土壤检测 第7部分土壤有效磷的测定》(NY/T 1121.7—2014)。结果如图1所示,氟化铵-盐酸偏提取酸性土壤时,随着浸提液比例降低,测定结果降低;随着提取时间增加,提取出的有效磷逐渐减少,与文献报道结果一致。王荣辉等^[18]提出,可能是由于土壤体系自身缓冲作用,浸提时间延长,土壤体系pH升高,导致F⁻对Fe³⁺和Al³⁺的配合能力减弱,Fe-P和Al-P的释放量减少而引起。用GBW07416标准物质研究氟化铵-盐酸浸提时间与pH关系,结果如图2所示,与文献^[18]结论一致,且与不同浸提时间的测定结果一致。

本实验中使用标准方法的土水比1:10时,需

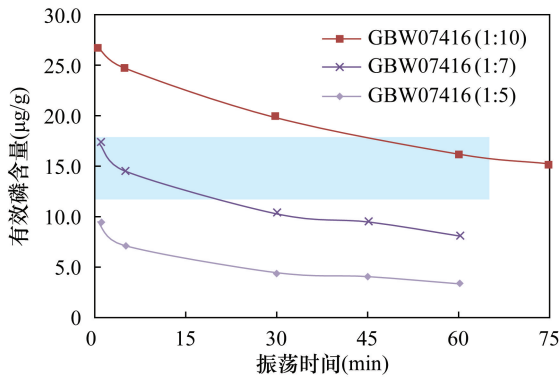


图 1 不同土水比及浸提时间条件下采用氟化铵-盐酸偏提取酸性土壤中有有效磷检测结果的比较

Fig. 1 Comparison of analytical results of available phosphorus in acid soil extracted by $\text{NH}_4\text{F-HCl}$ with different ratio of clay to water and extraction time.

浸提 60min, 才得到标样值结果。而中性及石灰性土壤可依据标准方法的实验条件测得相应的标样值。

2.2 溴酚蓝指示剂的对比实验

配制标准曲线 0、1、5、10、20、30 $\mu\text{g}/50\text{mL}$ 点, 并选用国家标准物质 GBW07412、GBW07414a、未知土壤样品 A、未知土壤样品 B 及流程空白溶液, 调节浸提液 pH 时分别使用二硝基酚和溴酚蓝作指示剂, 用 1cm 比色池, 比较两种方法的吸光度和检测结果。通过比较酸性土壤和中性、石灰性土壤标准曲线点的吸光度, 结果表明用这两种指示剂调节 pH 后, 加入显色剂, 显色吸光度没有明显差异。表 1 是分别用酸性土壤方法、中性和石灰性土壤方法分析对应的土壤未知样、标准物质、空白对比实验结果,

表 1 使用不同 pH 指示剂测定土壤中有有效磷结果对比

Table 1 Comparison of analytical results of available phosphorus in soil extracted by different pH indicator

不同酸碱性质土壤	待测液调节 pH 指示剂	实验样品	吸光度	溶液中有有效磷浓度 ($\mu\text{g}/50\text{mL}$)	样品中有有效磷测定值 ($\mu\text{g}/\text{g}$)	有效磷标准值 ($\mu\text{g}/\text{g}$)
酸性土壤	二硝基酚	GBW07412	0.245	22.305	22.30	21.2±3.6
		未知样 A	0.099	8.568	8.57	/
		空白溶液	0.009	0.153	/	/
	溴酚蓝	GBW07412	0.266	23.648	23.65	21.2±3.6
		未知样 A	0.104	8.458	8.46	/
		BK	0.006	-0.070	/	/
中性或石灰性土壤	二硝基酚	GBW07414a	0.140	14.721	29.44	29±3
		未知样 B	0.049	6.286	12.57	/
		空白溶液	-0.017	0.263	/	/
	溴酚蓝	GBW07414a	0.116	14.248	28.50	29±3
		未知样 B	0.024	5.790	11.58	/
		空白溶液	-0.020	0.013	/	/

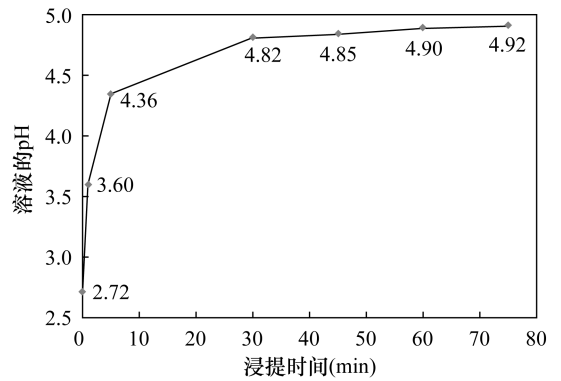


图 2 氟化铵-盐酸浸提时间与 pH 关系

Fig. 2 Relationship between extraction time of $\text{NH}_4\text{F-HCl}$ and pH.

可见使用溴酚蓝替代二硝基酚, 检测结果完全一致, 标准物质结果符合要求, 说明本文优化方法可以适用于酸性、中性和石灰性土壤。使用溴酚蓝(变色范围黄色 pH 3.0~4.6 蓝色)作指示剂调至适宜 pH 值时颜色为黄色, 磷酸根与钼锑抗显色剂形成蓝色配合物, 两种颜色波长差异非常大, 不干扰后续显色的测定。而且钼锑抗显色剂呈强酸性, 加入后不会使待测液 pH 值向碱性变化而导致溴酚蓝显色剂变色影响实验结果。

由于土壤样品的复杂性, 偏提取得到的待测溶液可能含有未知物质, 由于偏提取过程中化学反应的复杂性, 土壤中的未知物有可能会干扰所用指示剂溴酚蓝的使用效果, 但现有方法所用指示剂二硝基酚也存在这种未知性, 本方法应用中尚未见不适用情况。

2.3 浸提液 pH 的影响

标准方法《土壤检测 第 7 部分 土壤有效磷的

测定》(NY/T 1121.7—2014)中碳酸氢钠浸提液配制后,需用氢氧化钠溶液调节 pH 至 8.5,并定期监测浸提液 pH 值。选用两个标准物质,配制后直接使用并与调节 pH 后的浸提液分别测定,有效磷结果见表 2,碳酸氢钠浸提液 pH 值对结果影响很大,配制后溶液 pH 为 8.22,其浸提检测结果明显偏低。

表 2 碳酸氢钠浸提液 pH 对有效磷检测结果的影响

Table 2 Effect of NaHCO₃ extraction with different pH on analytical results of available phosphorus

标准物质 编号	有效磷测定值(μg/g)		有效磷标准值 (μg/g)
	未调节 pH	调节 pH 至 8.5	
GBW07413	14.20	17.49	18.3±2
GBW07414	10.26	12.71	13.8±2.3

氟化铵-盐酸浸提液的 pH 在标准方法中未作强调,部分文献^[27]中偶见 pH 1.5~2.0。如 2.1 章节所述,由于本研究中的浸提时间与行业标准方法《土壤检测 第 7 部分 土壤有效磷的测定》(NY/T 1121.7—2014)不一致,且碳酸氢钠碱性浸提液 pH 对实验结果有主要影响,为了了解酸性浸提液 pH 的影响程度,实验中尝试用不同厂家的氟化铵及盐酸试剂,按标准方法配制的酸性浸提液 pH 值为 2.7~3.2,测定结果没有明显差异。实验表明将氟化铵-盐酸浸提液 pH 调节至 2 后,浸提出大量的磷,明显不适用于有效磷的测定,因此氟化铵-盐酸浸提液配制后可直接使用。实验中发现,氟化铵-盐酸浸提液放置一个月,pH 值由 2.72 略升高至 2.79,其浸提 GBW07416 一小时后溶液 pH 值为 5.04,也比现配的溶液浸提后的 pH 值(4.90)高。虽检测结果未见明显差异,但浸提液的 pH 值可能会影响浸提能力,最好每周配制。

以上实验表明,碳酸氢钠浸提液配制后必须调节 pH 至 8.5,氟化铵-盐酸浸提液配制后可直接使用。

2.4 已浸提溶液的存放时间

《森林土壤 有效磷的测定》(LY/T 1233—1999)提到浸提后溶液的保存时间,需 24h 之内测定。本研究测定了两个不同含量水平的酸性土壤样品,结果见表 3,有效磷含量在 2μg/g 左右的样品,浸提液滤液放置 3 天检测结果下降约 7.57%,放置 5 天检测结果下降约 9.17%;有效磷含量在 15μg/g 左右的标准样品(GBW07416),浸提液滤液放置 3 天检测结果下降约 0.43%,放置 5 天检测结果下

降约 13.20%。可见浸提液久置后有效磷会损失,其含量下降程度与样品及含量有关,最好在浸提当天完成检测。

表 3 已浸提溶液的存放时间对有效磷检测结果的影响

Table 3 Effect of extracted solution with different storage time on analytical results of available phosphorus

样品	放置不同时间有效磷 测定值(μg/g)			有效磷测定值 下降比例(%)	
	0d	3d	5d	3d	5d
未知样品	2.54	2.34	2.30	-7.57	-9.17
GBW07416	17.05	16.98	14.80	-0.43	-13.20

2.5 方法检出限和精密度

选用酸性土壤有效态标准物质 GBW07416 和碱性土壤有效态标准物质 GBW07414,分别平行偏提取 7 份,检测结果见表 4。GBW07416 检测结果平均值为 17.2μg/g,GBW07414 检测结果平均值为 12.5μg/g,均在标准值范围内,准确度和相对标准偏差符合要求。依据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168—2010)附录 A.1.2,使用 3cm 比色皿时,与 0.01 吸光度对应的浓度值作为检出限,对应曲线浓度点约为 0.5μg/50mL。称样量为 5.0g 分取 10mL 浸提液时,检出限为 0.5μg/g;称样量为 2.5g 分取 10mL 浸提液时,检出限为 1.0μg/g。

表 4 方法精密度

Table 4 Precision tests of the method

参数	GBW07416	GBW07414
有效磷测定平均值(μg/g)	17.2	12.5
有效磷标准值(μg/g)	14.8±3.1	13.8±2.3
标准偏差(n=7)	0.5907	0.2323
相对标准偏差(% ,n=7)	3.44	1.86

3 结论

本研究探讨了测定土壤中有效磷标准方法中的实验条件对检测结果的影响,以及酸性土壤浸提时间及土水比对测定结果的影响。结果表明,酸性土壤在 1:10 土水比条件下,需浸提 60min 可得到标样值结果,而碱性土壤可依据标准方法实验条件得到标样值结果;同时探讨了浸提液 pH 的影响,碳酸氢钠浸提液需调 pH 至 8.5,否则结果明显偏低,氟化铵-盐酸浸提液不可调 pH 且不可久置;对于已浸提溶液的存放时间,最好在浸提当天完成检测。

本研究采用溴酚蓝指示剂替代标准方法的二硝基酚指示剂,标准方法使用的二硝基酚指示剂颜色突变不明显,易受浸提液底色影响,且易制爆、毒性强;而溴酚蓝指示剂调节 pH 时突变明显,不受浸提液底色干扰,优于标准方法的二硝基酚指示剂。基于两种指示剂的吸光度和检测结果完全一致,表明溴酚蓝指示剂可适用于土壤中有效磷的测定。

4 参考文献

- [1] 韩张雄,李敏,端爱玲,等. 土壤中有效磷的快速测定方法[J]. 农业与技术,2021,41(13):33-35.
Han Z X, Li M, Duan A L, et al. Rapid determination of available phosphorus in soil [J]. Agriculture and Technology, 2021, 41(13): 33-35.
- [2] 郭家泽,姚瑞,程江,等. 热水浴浸提-电感耦合等离子体发射光谱法测定土壤中有效硼[J]. 岩矿测试, 2022, 41(4): 614-620.
Guo J Z, Yao R, Cheng J, et al. Determination of available boron in soil by ICP-OES with hot water bath extraction [J]. Rock and Mineral Analysis, 2022, 41(4): 614-620.
- [3] 谢薇,杨耀栋,菅桂芹,等. 四种浸提剂对果园与菜地土壤有效硒浸提效果的对比研究[J]. 岩矿测试, 2020, 39(3): 434-441.
Xie W, Yang Y D, Jian G Q, et al. A comparative study of four extractants on the extraction of available selenium in vegetable and orchard soils [J]. Rock and Mineral Analysis, 2020, 39(3): 434-441.
- [4] 任冬,陈宇豪,张廷忠. 高压密闭消解技术在土壤有效态样品前处理中的应用[J]. 岩矿测试, 2020, 39(1): 143-149.
Ren D, Chen Y H, Zhang T Z. Application of high pressure closed digestion in pretreatment of effective soil samples [J]. Rock and Mineral Analysis, 2020, 39(1): 143-149.
- [5] 王微芝,赵枝刚,刘宏,等. ICP-AES 法测定有机-无机复混肥中有效磷不确定度的评定[J]. 分析仪器, 2021(4): 95-101.
Wang W Z, Zhao Z G, Liu H, et al. Uncertainty evaluation of determination of available phosphorus in organic-inorganic compound fertilizer by ICP-AES [J]. Analytical Instrumentation, 2021(4): 95-101.
- [6] 李国辉,马瑞杰,潘应云,等. 滇中地区土壤有效磷含量对植物理化性质的影响[J]. 消防科学与技术, 2021, 40(11): 1661-1665.
Li G H, Ma R J, Pan Y Y, et al. Study on the effect of soil available phosphorus content on the physicochemical properties of plants in central Yunnan [J]. Fire Science and Technology, 2021, 40(11): 1661-1665.
- [7] 刘超良,杨扬,王爽,等. 河南信阳板栗生长的土壤地球化学评价[J]. 岩矿测试, 2013, 32(4): 638-643.
Liu C L, Yang Y, Wang S, et al. Geochemistry evaluation on soil of Xinyang chestnut growth in Henan Province [J]. Rock and Mineral Analysis, 2013, 32(4): 638-643.
- [8] Khuong N Q, Huu T N, Thuc L V, et al. Two strains of *Luteovulum sphaeroides* (purple nonsulfur bacteria) promote rice cultivation in saline soils by increasing available phosphorus [J]. Rhizosphere, 2021, 20: 100456.
- [9] 梅连平. 混合溶液提取-电感耦合等离子体原子发射光谱法同时测定碱性土壤中速效钾和有效磷、铁、锰、铜、锌的含量[J]. 理化检验(化学分册), 2019, 55(9): 1112-1116.
Mei L P. Extraction of analytes with a composite solution-simultaneous ICP-AES determination of quick-acting K and effective P, Fe, Mn, Cu, Zn in alkaline soil [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2019, 55(9): 1112-1116.
- [10] Wang Z, Chen L, Liu C, et al. Reduced colloidal phosphorus loss potential and enhanced phosphorus availability by manure-derived biochar addition to paddy soils [J]. Geoderma, 2021, 402: 115348.
- [11] 夏晓燕,邵赛男,蒋玉根,等. 酸性土壤有效磷测定中的温度控制技术探讨[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(3): 598-599.
Xia X Y, Shao S N, Jiang Y G, et al. Discussion on temperature control technology for determination of available phosphorus in acid soil [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2021, 62(3): 598-599.
- [12] 田野,刘善江,陈益山. 复合肥料中有效磷含量测定的能力验证研究[J]. 中国土壤与肥料, 2020(3): 172-175.
Tian Y, Liu S J, Chen Y S. Study on proficiency testing of determination of available phosphorus content for compound fertilizer [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2020(3): 172-175.
- [13] 王浩琳,马悦,李永华,等. 基于小麦产量与籽粒锰含量的磷肥优化管理[J]. 中国农业科学, 2022, 55(9): 1800-1810.
Wang H L, Ma Y, Li Y H, et al. Optimal management of phosphorus fertilization based on the yield and grain manganese concentration of wheat [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2022, 55(9): 1800-1810.
- [14] 周冬梅,梁攀,姜颖,等. 酸性土壤中有效磷测定方法改进[J]. 磷肥与复肥, 2021, 36(7): 43-45.

- Zhou D M, Liang P, Jiang Y, et al. Improvement of determination method of available phosphorus in acid soil [J]. *Phosphate & Compound Fertilizer*, 2021, 36(7): 43-45.
- [15] 李朝英, 郑路. 用流动分析仪测定酸性土壤有效磷 [J]. *浙江农业科学*, 2020, 61(1): 173-175.
- Li C Y, Zheng L. Determination of available phosphorus in acid soil by flow analyzer [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2020, 61(1): 173-175.
- [16] 白碧佳. 不同测试方案对有效磷测定效果的对比分析 [J]. *山西化工*, 2020, 40(3): 47-49.
- Bai B J. Comparative analysis of different test schemes on the determination of available phosphorus [J]. *Shanxi Chemical Industry*, 2020, 40(3): 47-49.
- [17] 周勇民. 土壤中有有效磷含量测定方法探讨 [J]. *河南化工*, 2010, 27(24): 54-55.
- Zhou Y M. Study on determination of available phosphorus content in soil [J]. *Henan Chemical Industry*, 2010, 27(24): 54-55.
- [18] 王荣辉, 曾芳, 许桂芝, 等. 现行国标有效磷测定方法比较 [J]. *广东农业科学*, 2010, 37(2): 84-85.
- Wang R H, Zeng F, Xu G Z, et al. Comparison of current national standard methods of available phosphorus determination [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2010, 37(2): 84-85.
- [19] 梅连平, 刘晨曦, 李云东, 等. ICP-AES 法测定碱性土壤中有有效磷、速效钾 [J]. *磷肥与复肥*, 2021, 36(5): 34-35.
- Mei L P, Liu C X, Li Y D, et al. Determination of effective P and available K in alkaline soil by ICP-AES method [J]. *Phosphate & Compound Fertilizer*, 2021, 36(5): 34-35.
- [20] 秦海娜, 杨亮改, 耿丽婵. 对电感耦合等离子体发射光谱法测定土壤中有有效磷的改进应用 [J]. *资源环境与工程*, 2019, 33(S1): 146-149.
- Qin H N, Yang L G, Geng L C. Improved application of inductively coupled plasma emission spectrometry for the determination of active phosphorus in soil [J]. *Resources Environment & Engineering*, 2019, 33(S1): 146-149.
- [21] 刘珂珂, 董学亮, 李果果, 等. 电感耦合等离子体原子发射光谱法测定石灰性土壤中有有效磷 [J]. *冶金分析*, 2021, 41(9): 77-82.
- Liu K K, Dong X L, Li G G, et al. Determination of available phosphorus in calcareous soil by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry [J]. *Metallurgical Analysis*, 2021, 41(9): 77-82.
- [22] 韩张雄, 李敏, 端爱玲, 等. 电感耦合等离子体发射光谱法测定土壤中的有效磷 [J]. *福建分析测试*, 2021, 30(6): 56-59.
- Han Z X, Li M, Duan A L, et al. Determination of available phosphorus in soil by inductively coupled plasma emission spectrometry [J]. *Fujian Analysis & Testing*, 2021, 30(6): 56-59.
- [23] 方玉凤, 刘文环, 崔琳, 等. 弱酸性森林土壤有效磷的测定方法比较 [J]. *东北林业大学学报*, 2018, 46(12): 71-75.
- Fang Y F, Liu W H, Cui L, et al. Comparison of measuring methods on available phosphorus of slight acid forest soils [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2018, 46(12): 71-75.
- [24] 张宁, 姜云军, 郭秀平, 等. 碳酸氢钠浸提-基体分离-电感耦合等离子体质谱法测定石灰性土壤中有有效磷 [J]. *理化检验(化学分册)*, 2019, 55(2): 214-217.
- Zhang N, Jiang Y J, Guo X P, et al. Determination of available phosphorus in calcareous soil by sodium bicarbonate extraction - matrix separation - inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2019, 55(2): 214-217.
- [25] 张翔, 赵琼, 魏丽漫, 等. 森林土壤有效磷测定过程中 3 种脱色剂的效果比较 [J]. *安徽农业大学学报*, 2021, 48(2): 273-278.
- Zhang X, Zhao Q, Wei L M, et al. Comparison of the effects of three adsorbent materials in the determination of available phosphorus in forest soils [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2021, 48(2): 273-278.
- [26] 姚周麟, 吴韶辉, 应晶琪, 等. 土壤有效磷测定中二硝基酚指示剂替代研究 [J]. *浙江柑橘*, 2021, 38(2): 26-29.
- Yao Z L, Wu S H, Ying J Q, et al. Substitution of dinitrophenol indicator in determination of available phosphorus in soil [J]. *Zhejiang Citrus*, 2021, 38(2): 26-29.
- [27] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 81.
- Bao S D. *Soil and agricultural chemistry analysis (The Third Edition)* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 81.

Spectrophotometric Determination of Available Phosphorus in Soil with Bromophenol Blue as an Acid–base Indicator

YU Tingting, ZHU Yun, GUO Lin*

(National Research Center for Geoanalysis, Beijing 100037, China)

HIGHLIGHTS

- (1) Using bromophenol blue as an acid–base indicator was first proposed in the determination of available phosphorus in soil.
- (2) Bromophenol blue showed more obvious mutation as a better acid–base indicator than dinitrophenol in this method.
- (3) Extraction time, soil–liquid ratio, acidity of the extraction, and other experimental conditions were studied.

ABSTRACT

BACKGROUND: Standard and common methods for the determination of available phosphorus in soil are usually spectrophotometry methods. Before measurement, the sample is extracted by an acid or base solution, and the pH of the extracted liquid is regulated. The existing methods include complex operation steps such as filtration, and the acid–base indicator dinitrophenol is highly toxic. Most of all, the color of dinitrophenol is easily altered.

OBJECTIVES: To optimize the existing method and improve detection efficiency, and then use the method for soil available state analysis and soil evaluation.

METHODS: Different experimental conditions such as extraction time, acidity of the extraction and acid–base indicator type were compared. Centrifugal separation was used instead of filtration, and bromophenol blue was first used as the acid–base indicator. Detection results of bromophenol blue and dinitrophenol were compared.

RESULTS: Comparing the detection results of the bromophenol blue indicator and dinitrophenol indicator, the absorbance, accuracy of national standard substance and unknown sample detection results were completely consistent. With bromophenol blue as the acid–base indicator, color mutation was obvious without any interference of bottom color.

CONCLUSIONS: Bromophenol blue has low toxicity with accurate detection results. This improved method is appropriate for rapid determination of available phosphorus in acid, neutral and carbonate soils.

KEY WORDS: soil; available phosphorus; spectrophotometry; acid–base indicator; dinitrophenol; bromophenol blue; experimental condition optimization