

# 土壤全硫提取和测定方法的改进

张晓霞<sup>1</sup>, 郑煜基<sup>1</sup>, 何晓峰<sup>1</sup>, 林楚平<sup>2</sup>, 陈能场<sup>1\*</sup>

(1. 广东省生态环境技术研究所广东省农业环境综合治理重点实验室, 广东广州 510650; 2. 韶关市环境保护科学技术研究所, 广东韶关 512026)

**摘要** [目的]研究大批量测定土壤样品硫含量的简单、经济、有效的方法。[方法]对氧化法提取全硫和 BaSO<sub>4</sub> 比浊法进行完善。[结果]将土壤消解液消解剩余至 1~2 mL, 适量消解提取液(校准曲线加入等量空白消解液), 加入(1+2)甘油-乙醇稳定剂、冰醋酸缓冲剂, 以硝酸钡作为沉淀剂, 电磁搅拌 1 min, 静置 20 min 后, 40 min 内在波长 440 nm 处测定比浊液吸光度, 得到精确的试验结果。[结论]该方法可应用于高硫土壤样品中全硫的测定。

**关键词** 全硫; 提取; BaSO<sub>4</sub> 比浊法; 硝酸钡

**中图分类号** S158.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)17-0091-03

## Improvement of Extraction and Determination Method of Total Sulfur in Soil

ZHANG Xiao-xia, ZHENG Yu-ji, HE Xiao-feng, CHEN Neng-chang<sup>\*</sup> et al (Guangdong Key Laboratory of Integrated Agro-environmental Pollution Control and Management, Guangdong Institute of Eco-environmental Science & Technology, Guangzhou, Guangdong 510650)

**Abstract** [Objective] To study a simple, economic and effective method to measure the sulfur content in soil samples. [Method] Total sulfur extraction process by oxidation method and BaSO<sub>4</sub> turbidity method were developed. [Result] The soil digestion solution was digested to 1-2 mL in the process of extracting the sulfur from soil by the method of nitric acid perchloric acid, and then were determined with the improved BaSO<sub>4</sub> turbidity. A proper amount of digestion solution (calibration curve was added to the same amount of blank solution), (1+2) glycerol-ethanol was used as stabilizer, using acetic acid solution to ease the change of the acidity of solution, adding 5% barium nitrate solution as precipitating agent instead of barium chloride solution, electromagnetic stirring for 1 min, and then at the intrinsic wavelength of 440 nm, total sulfur in the soil was determined after 20 minutes and within 40 minutes, then right result was gotten. [Conclusion] The method can be applied to the determination of total sulfur in samples of high-sulfur soil.

**Key words** Total sulfur; Extraction; BaSO<sub>4</sub> turbidity method; Barium nitrate

土壤是作物吸收硫的主要来源, 了解土壤中硫含量是指导硫肥合理施用的基础。我国大多数土壤全硫含量为 0.011%~0.049%, 有机质多的土壤全硫可超过 0.050%<sup>[1]</sup>。提取土壤全硫的方法有 3 类: 一类是将硫全部还原为 S<sup>2-</sup>, 称为还原提取法<sup>[2-6]</sup>; 另一类是使其全部氧化成 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, 称为氧化提取法, 如 Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-HNO<sub>3</sub> 氧化法<sup>[7-10]</sup>、HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub> 法<sup>[11-12]</sup>、碱熔法<sup>[13-14]</sup>; 还有一类是将硫全部转化为 SO<sub>2</sub>, 如燃烧法<sup>[15]</sup>。提取方法的选择, 除满足一定的精度外, 还要考虑试验条件、方法的繁简与操作的快慢等, 这对大量样品的常规分析尤为重要<sup>[4]</sup>。氧化法操作简单, 所需设备简单, 在一般实验室内均能进行, 可作为提取土壤全硫的可行方法<sup>[4]</sup>。

采用氧化法从土壤中提取得到的硫, 以 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 存在于溶液中。溶液中 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的测定方法主要有比浊法、滴定法、重量法、离子色谱法<sup>[14]</sup>、ICP-AES 法<sup>[15]</sup>、容量法及比色法等<sup>[4, 16-17]</sup>。关于溶液中 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 测定方法的选择, 要视 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的含量和实验室条件而定。BaSO<sub>4</sub> 比浊法可测浓度范围广, 不需要精密仪器, 简易快速, 适用于大量样品在基层实验室分析的需要。常规 BaSO<sub>4</sub> 比浊法操作条件要求严格, 张晓霞等<sup>[18]</sup>、杨维英等<sup>[19]</sup> 都对其进行了改进。笔者在前人基础上对氧化法提取全硫和 BaSO<sub>4</sub> 比浊法进行完善和细化, 取得了满意的效果。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器与试剂** 仪器: 电热板、电磁搅拌器、可见分光光度计(722S)。试剂: HNO<sub>3</sub>(A. R.)、HClO<sub>4</sub>(A. R.)、甘油、无水乙醇、冰醋酸(A. R.)、质量分数 5% Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 溶液、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 标准溶液[GBW(E)080266 国家标准物质溶液 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 为 1 000 mg/L], 所用水为去离子水。

**1.2 标准硫溶液配制** 标准储备液 GBW(E)080266 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 为 1 000 mg/L, 将此溶液准确稀释成含 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 100 mg/L 的标准溶液, 备用。

**1.3 校准工作曲线的绘制** 吸取含 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 100 mg/L 标准溶液 0、0.40、0.80、1.20、1.40、1.60、2.00 mL 分别放入 10 mL 具塞比色管中, 加入等量空白测试液、1 mL 冰醋酸、1 mL 6% (1+2) 甘油-乙醇(取 6 mL 甘油和乙醇按体积比 1:2 混合的混合液, 用水定容至 100 mL), 用水定容, 即为 0、4.00、8.00、12.00、14.00、16.00、20.00 mg/L SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 标准系列溶液。测定时将上述溶液转入 50 mL 烧杯中, 加 5% 硝酸钡溶液 10 mL, 用电磁搅拌器搅拌 1 min, 静置 20 min 后, 40 min 内在分光光度计上于波长 440 nm 处, 用 3 cm 光径比色皿比浊, 读取吸光度, 绘制工作曲线(图 1)。

**1.4 试验方法** 土壤中总硫的提取采用 HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub> 湿法消解: 准确称取 0.500 0 g 100 目土样于 50 mL 锥形瓶中, 加入 10 mL HNO<sub>3</sub>(68%) 和 5 mL HClO<sub>4</sub>(72%)。锥形瓶口加一短颈小漏斗, 以减少酸的挥发损失, 并能起到一定程度的回流作用。于低温电炉上加热, 至样品呈白色、消解液剩余 1~2 mL 为止(4~6 h)。冷却, 用超纯水洗涤转入 25 mL 具塞试管中, 定容, 摇匀过滤, 滤液储存待测。

取适量全硫消解液于 10 mL 具塞试管中, 加入 1 mL 冰

**基金项目** 国家自然科学基金项目(41101212, 41071300); 广东省科学院野外工作站基金项目(sytz 2010 11)。

**作者简介** 张晓霞(1987—), 女, 山东聊城人, 研究实习员, 硕士, 从事农田重金属污染控制与修复研究。\* 通讯作者, 研究员, 博士, 博士生导师, 从事环境生态、食品安全方面的研究。

**收稿日期** 2017-04-22

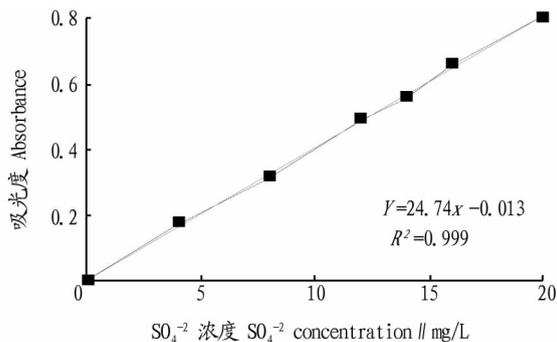


图1 标准曲线

Fig. 1 The standard curve of sample determination

醋酸 1 mL 6% (1 + 2) 甘油 - 乙醇混合液, 定容摇匀, 加入 10 mL 5% 硝酸钡溶液, 电磁搅拌 1 min, 静置 20 min 后, 40 min 内在波长 440 nm 处, 用 3 cm 光径比色皿在 722S 分光光度计上测定比浊液吸光度, 计算土壤全硫含量。

## 2 结果与分析

**2.1 氧化提取法的选择** 许多研究者<sup>[8-9]</sup>采用  $Mg(NO_3)_2 - HNO_3$  将土壤中的硫氧化为  $SO_4^{2-}$ , 单孝全等<sup>[11]</sup>、傅柳松等<sup>[12]</sup>也采用  $HNO_3 - HClO_4$  法来氧化土壤中的硫, 孙翠香等<sup>[14]</sup>则采用碱熔法将土壤中的硫氧化为  $SO_4^{2-}$ 。3 种氧化方法的比较见表 1。由表 1 可知, 采用  $HNO_3 - HClO_4$  法可以明显缩短试验时间, 而且操作简单。碱熔法虽然消解所用时间最短, 但其操作繁琐, 且马弗炉降温缓慢, 瓷坩埚温度骤变易裂, 因此该试验采用  $HNO_3 - HClO_4$  法来提取土壤总硫, 李成保<sup>[4]</sup>也建议采用  $HNO_3 - HClO_4$  湿法分解。

表 1 3 种提取方法的比较

Table 1 Comparison of three extraction methods

方法 Methods	消解过程 Digestion process	所需总时间 Required time//h
$Mg(NO_3)_2 - HNO_3$ 法 $Mg(NO_3)_2 - HNO_3$ method	2.00 g 土样加入 4 mL $Mg(NO_3)_2$ 溶液, 电板上蒸干, 并于 300 °C 下灼烧 24 h, 冷却后, 加 1:3 $HNO_3$ 溶液 5 mL 盖上表面皿, 水浴上消煮 2.5 h	>26.5
$HNO_3 - HClO_4$ 法 $HNO_3 - HClO_4$ method	0.50 g 土样加入 10 mL $HNO_3$ (68%) 和 5 mL $HClO_4$ (72%)。锥形瓶口加一短颈小漏斗低温加热 4 ~ 6 h, 至样品呈白色为止	约 6.0
碱熔法 Alkali fusion method	1.00 g 土样于瓷坩埚中, 加入 2.0 g $m(MgO) : m(Na_2CO_3) = 2 : 1$ 的混合溶剂 (样品下 0.5 g, 上 1.5 g), 移入马弗炉中升温至 800 °C, 加热 1 h, 取出冷却, 转入 100 mL 烧杯中, 用 50 mL 水分 3 次浸提, 每次超声振荡 8 min, 然后过滤于 50 mL 容量瓶中定容	约 2.0

**2.2 沉淀剂的选择** 梁运献<sup>[8]</sup>、傅娇艳等<sup>[9]</sup>、张雪霞等<sup>[18]</sup>、杨维英等<sup>[19]</sup>均对加入 Ba 盐沉淀剂的形态及种类对吸光度的影响进行了研究, 但结果不一致。试验过程中发现 Ba 盐所含杂质较多, 且张雪霞等<sup>[18]</sup>、杨维英等<sup>[19]</sup>均发现加入 Ba 盐溶液更有利于  $BaSO_4$  悬浊液的稳定。这是因为  $Ba(NO_3)_2$  晶形较大, 直接使用固体不利于  $BaSO_4$  的形成和均匀悬浮, 而加入 Ba 盐溶液能与  $SO_4^{2-}$  接触更充分, 有利于形成均匀的

$BaSO_4$  悬浊液<sup>[9]</sup>。因此, 该试验采用过滤后的 Ba 盐溶液为沉淀剂。

采用相同的提取液, 在加入的醋酸、甘油 - 乙醇溶液的量及浓度、搅拌和静置时间相同的条件下, 分别加入不同的 Ba 盐溶液 (加入  $BaCl_2$  溶液的比浊液需加入浓  $H_3PO_4$  掩蔽剂), 平行 4 次测定吸光度, 结果见表 2。由表 2 可知, 加入 2 种 Ba 盐所测定悬浊液的精密度无显著区别。因此, 该试验采用  $Ba(NO_3)_2$  溶液进行样品全硫的测定, 避免加入  $H_3PO_4$  掩蔽剂, 节约了试验成本。这与杨维英等<sup>[19]</sup>的试验结果一致。

表 2 不同 Ba 盐对吸光度的影响

Table 2 Effects of different Ba salts on absorbance

沉淀剂 Precipitation agent	平均吸光度 Average absorbance	标准偏差 The standard deviation//%
$BaCl_2$ 溶液 $BaCl_2$ solution	0.345	1.43
$Ba(NO_3)_2$ 溶液 $Ba(NO_3)_2$ solution	0.745	1.43

**2.3 准确度** 采用改进后的方法和改进前的方法<sup>[18-19]</sup>分别对 GBW007453 (GSS-24) - 土壤成分分析标准物质 - 广东省阳江市南海滩涂沉积物 [标准值  $(2\ 000 \pm 300)$  mg/kg] 进行测定, 2 次重复, 结果见表 3。由表 3 可知, 改进后的方法所测定结果在土壤标准物质的理论值范围内, 而张雪霞等<sup>[18]</sup>、杨维英等<sup>[19]</sup>的方法并不能得到准确的结果, 这可能是由于改进前的方法其消解过程中并未将消解液消解至 1 ~ 2 mL, 工作曲线也没有加入等量空白消解液, 导致样品比浊液的酸度和校准曲线的酸度不一致, 也可能是由于消解过程中硫并未完全氧化为  $SO_4^{2-}$ 。因此, 采用改进后的方法, 不但提高了测定结果的准确度, 也说明其适用于高硫土壤样品中全硫的测定。

表 3 不同改进方法准确度的比较

Table 3 The accuracy of different improvement methods

方法 Methods	平均值 Average mg/kg	相对偏差 The standard deviation//%
该研究方法 The research method	2 207.55	2.56
文献 [18] 方法 The literature [18] method	1 299.39	4.66
文献 [19] 方法 The literature [19] method	1 332.84	4.02

## 3 结论

(1) 采用  $HNO_3 - HClO_4$  湿法消解提取土壤中全硫时, 将消解液剩余 1 ~ 2 mL, 可缓解测定时待测液中酸度对比浊液吸光度造成的影响。

(2) 采用  $BaSO_4$  比浊法测定  $SO_4^{2-}$  时, 先加入等量空白消解液, 可保证待测比浊液和校准曲线比浊液酸度一致, 有利于得到准确的测定结果。

(3) 采用  $BaSO_4$  比浊法测定  $SO_4^{2-}$  时, 加入  $Ba(NO_3)_2$  溶液代替  $BaCl_2$  溶液作为沉淀剂, 避免加入  $H_3PO_4$  掩蔽剂, 节

约了试验成本。

(4) 该研究测定方法可应用于高硫土壤样品中全硫的测定。

## 参考文献

- [1] 中国土壤学会. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 198.
- [2] FAN J L, XIA X, HU Z Y, et al. Excessive sulfur supply reduces arsenic accumulation in brown rice[J]. *Plant Soil Environ*, 2013, 59(4): 169-174.
- [3] KALEMBASA S, GODLEWSKA A. Total sulfur and its fractions as well as activity of arylsulfatase in soil depending on waste organic materials and liming[J]. *Environment protection engineering*, 2010, 36(1): 5-11.
- [4] 李成保. 土壤中总硫和不同形态硫的提取与测定[J]. *土壤学进展*, 1990(6): 42-46.
- [5] TABATABAI M A, BREMNER J M. An alkaline oxidation method for determination of total sulfur in soils[J]. *Soil Sci Soc America*, 1970, 34(1): 511-514.
- [6] TABATABAI M A, BREMNER J M. Comparison of some methods for determination of total sulfur in soils[J]. *Soil Sci Soc America*, 1970, 34(3): 417-420.
- [7] 南京农业大学. 土壤农化分析[M]. 2版. 北京: 农业出版社, 1992: 62.
- [8] 梁运献. 硫酸钡比浊法测定土壤全硫的改进[J]. *广西农业科学*, 2002(4): 186-187.

(上接第 90 页)

特别是特殊菌群的添加。笔者筛选出具有较高木质素酶和纤维素酶活力的灵芝菌株, 进行青贮饲料的发酵, 获得了较理想的青贮饲料成品。

青贮饲料的发酵分为 2 个阶段: 第 1 阶段为耗氧发酵阶段, 体系中的微生物通过生长代谢, 消耗氧气; 第 2 阶段为厌氧发酵阶段, 氧气耗尽后体系进入以乳酸发酵为主的青贮主发酵阶段<sup>[3]</sup>。该试验过程中添加活的灵芝菌, 在发酵的前期通过降解秸秆进行生长, 生长过程中消耗氧气, 从而缩短了耗氧发酵的周期, 使发酵过程提前进入乳酸发酵阶段, 同时为乳酸菌的生长保留更多可利用的营养物质; 在发酵过程中, 灵芝还可以代谢产生纤维素酶和木质素酶, 通过降解植物纤维成分提供糖类物质, 促进体系中有益菌的生长, 且不会产生其他真菌发酵产生的霉味。该试验结果表明, 采用具有较高木质素酶和纤维素酶活力的黑芝辅助发酵, 1 d 后即可检测到乳酸发酵产物, 45 d 即可达到青贮饲料的品质要求, 缩短了常规需要 60 d 的发酵过程。

此外, 灵芝还具有很多活性代谢产物, 可以从多个方面来提高青贮饲料的品质, 如灵芝发酵产物灵芝多糖具有抑制芽孢菌生长的活性<sup>[8]</sup>, 可以减少发酵过程中芽孢菌生长引起 2 次发酵而产生的不良气味, 可以抑制部分霉菌的生长, 提高青贮饲料的开口稳定性; 灵芝本身可代谢产生灵芝多糖及灵

- [9] 傅娇艳, 丁振华, 吴彦愨, 等. 硫酸钡分光光度比浊法测定高硫环境样品[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2007, 46(6): 880-883.
- [10] MCCASKILL M R, CAYLEY J W D. Soil audit of a long-term phosphate experiment in south-western Victoria: Total phosphorus, sulfur, nitrogen, and major cations[J]. *Australian J Agric Res*, 2000, 51(6): 737-748.
- [11] 单孝全, 陈斌, 铁军, 等. 土壤和河流沉积物中硫的形态分析[J]. *环境科学学报*, 1991, 11(2): 172-177.
- [12] 傅柳松, 朱荫涓, 姚双, 等. 污灌土壤中硫的积累及形态分布特征[J]. *农业环境保护*, 1995, 14(4): 158-161.
- [13] 国家林业局. 森林土壤全硫的测定: LY/T 1255—1999[S]. 北京: 国家林业局, 1999: 197-201.
- [14] 孙翠香, 刘婷琳, 毕鸿亮, 等. 碱熔-离子色谱法测定土壤中全硫的研究[J]. *生态环境学报*, 2009, 18(5): 1980-1983.
- [15] 蒋天成, 刘守廷. ICP-AES 快速测定土壤中硫含量[J]. *光谱实验室*, 2007, 24(2): 99-102.
- [16] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 139-145.
- [17] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海: 上海科技出版社, 1978: 378-409.
- [18] 张雪霞, 张晓霞, 陈能场, 等. 高硫高铁土壤全硫提取和测定方法的改进[J]. *生态环境学报*, 2013, 22(11): 1841-1845.
- [19] 杨维英, 张晓霞, 史磊, 等. 硫酸钡比浊法测定土壤全硫的改进[J]. *中国科技博览*, 2014(17): 203-204.

芝三萜类成分<sup>[9]</sup>, 提高饲喂动物的免疫力, 从而减少动物疾病的发生等。该研究仅初步确定了灵芝辅助发酵青贮饲料的菌株, 后续将继续进行灵芝辅助发酵对发酵体系微生物菌群的影响, 及灵芝青贮饲料对动物免疫力的影响等相关试验, 完成对灵芝辅助发酵青贮饲料的产品开发。

## 参考文献

- [1] 韦茂贵, 王晓玉, 谢光辉. 中国各省大田作物田间秸秆资源量及其时间分布[J]. *中国农业大学学报*, 2012, 17(6): 32-44.
- [2] 周德宝. 青贮饲料的研究、发展及现状[J]. *氨基酸和生物资源*, 2004, 26(2): 32-34.
- [3] 倪奎奎. 全株水稻青贮饲料中微生物菌群以及发酵品质分析[D]. 郑州: 郑州大学, 2016.
- [4] 魏艳红. 纤维素酶产生菌的分离鉴定及产酶条件优化[D]. 武汉: 华中师范大学, 2009: 12-14.
- [5] 杨礼富, 谢贵水, 王真辉, 等. 木质纤维素酶高产菌株的筛选和鉴定[J]. *热带作物学报*, 2001, 22(3): 70-77.
- [6] RIBEIRO G O, GONÇALVES L C, PEREIRA L G, et al. Effect of fibrolytic enzymes added to a *Andropogon gayanus* grass silage-concentrate diet on rumen fermentation in batch cultures and the artificial rumen (Rusitec) [J]. *Animal*, 2015(20): 1-10.
- [7] BROBERG A, JACOBSSON K, STRÖM K, et al. Metabolite profiles of lactic acid bacteria in grass silage[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(17): 5547-5552.
- [8] 周金凤, 姚强, 张露萍, 等. 灵芝不同培养基发酵液粗提物抑菌活性研究[J]. *中国酿造*, 2010(3): 53-55.
- [9] WEI Z H, DUAN Y Y, QIAN Y Q, et al. Screening of *Ganoderma* strains with high polysaccharides and ganoderic acid contents and optimization of the fermentation medium by statistical methods [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2014, 37(9): 1789-1797.