

## 土壤无机阴离子的毛细管电泳分析\*

李立平 张佳宝 朱安宁 邢维芹

(土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 江苏南京 210008)

**摘要** 采用以铬酸钠为背景电解质、十六烷基三甲基溴化铵为电渗流改性剂的间接紫外检测法电泳系统, 研究了分离电压、缓冲液的酸碱性等毛细管电泳测定氯离子、硫酸根、硝酸根和磷酸根的基本条件, 可在 5 min 内对以上 4 个离子实现准确定量。测定了 5 个采自全国不同地区的土壤样品水提取液中的无机阴离子。结果显示, 毛细管电泳可对提取液中的氯离子、硫酸根和硝酸根实现较准确的定量, 测定结果与离子色谱比较一致; 对硝态氮的测定结果与 KCl 提取流动分析结果相关性达到  $p < 0.10$  水平, 表明测定结果可在一定程度上反映土壤氮素养分状况。但土壤用水静置提取 24 h, 提取液中的磷未达到毛细管电泳和离子色谱法的检测限, 毛细管电泳的测定精确度不及离子色谱。

**关键词** 土壤; 毛细管电泳; 无机阴离子; 分析

**中图分类号** S151.9

**文献标识码** A

毛细管电泳从 20 世纪 90 年代初用于无机阴离子的测定, 先后有人将该方法用于无机离子的标样<sup>[1]</sup>、环境水样<sup>[2]</sup>、自来水<sup>[3]</sup>、造纸厂废水<sup>[4]</sup>、尿液<sup>[5]</sup>、雨水<sup>[6,7]</sup> 中无机离子及土壤中农药<sup>[8]</sup> 等物质的分析。90 年代中期开始有人将该方法用于土壤无机阴离子分析<sup>[9]</sup>。

农业土壤中常见的主要无机阴离子有氯离子、硫酸根、硝酸根、碳酸根和磷酸根, 但磷酸根含量较低。这些离子的传统测定方法是滴定法或比色法, 各离子需要分别测定, 测定步骤比较繁琐, 需要的时间和费用大。与传统方法相比, 毛细管电泳测定土壤无机阴离子的主要优点有: (1) 同一提取液中的多种无机阴离子可在较短时间内一次性测出。一般来说, 测定每个样品所需时间在 10 min 以内甚至更短。(2) 样品需要量和试剂消耗少。(3) 测定费用低。

用毛细管电泳测定土壤无机阴离子, 常用水作为提取剂, 经过 10 h 以上静止浸提后, 将上清液离心、过滤作为待测液<sup>[10,11]</sup>。也有人<sup>[12]</sup> 报道了在土壤中加水后用手振荡 5 min, 离心、过滤获得待测液。前一方法提取时间长, 但由于没有振荡, 易获得澄清溶液, 提取也比较充分。而后一方法虽然快速, 但用手振荡可重复性差, 较少被土壤工作者应用。因此, 有必要对与毛细管电泳相适应的土壤中无机阴离子

的提取方法进行探讨。通常来说测定土壤氮、磷的目的是了解土壤氮、磷养分状况, 为施肥和环境保护提供依据, 但应用毛细管电泳测定法的报道较少。

本研究的目的是: (1) 对毛细管电泳测定溶液中氯离子、硫酸根、碳酸根、硝酸根、磷酸根等无机离子的方法进行进一步的探讨; (2) 研究提取时间对静水浸提土壤无机阴离子的影响, 并用毛细管电泳测定提取液中的无机阴离子; (3) 土壤无机阴离子的毛细管电泳测定结果与其他方法对比, 探讨测定结果与这些方法的关系。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

毛细管电泳仪为 Beckman P/ACE 5000 型, 配紫外检测器; 数据采集软件为 Gold System, 均为贝克曼库尔特公司产品(美国)。石英毛细管为永年锐洋色谱器件有限公司(河北永年)产品。离子色谱仪为 Dionex 500 型(美国), 分析柱为 IonPac AS14 型, 流动相为  $3.5 \text{ mmol L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3 / 1.0 \text{ mmol L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ 。流动分析仪为 Astoria Analyzer 300 System(美国)。土壤提取液制备、毛细管电泳和离子色谱分析及各试剂配制均用超纯水( $18.0 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ), 流动分析用普通蒸

\* 中国科学院创新项目(KZCX2-404)、国家高新技术发展计划(863 课题)(2003AA209010)和国家重点基础研究发展规划(973 项目)(G1999011803)资助

作者简介: 李立平(1972~), 男, 甘肃灵台人, 博士生, 主要从事土壤养分测定方法研究。Tel: 025-86881234; E-mail: lpli@issas.ac.cn

收稿日期: 2003-12-22; 收到修改稿日期: 2004-04-08

馏水。试剂均为国产分析纯,为南京化学试剂一厂、中国医药集团上海化学试剂公司和上海凌峰化学试剂有限公司产品。各阴离子标准液分别用 NaCl、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、KNO<sub>3</sub>、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 和 NaHCO<sub>3</sub> 配制。

## 1.2 土壤样品制备及性质

土壤样品的采样地点和部分性状见表1。土样风干,过2 mm筛,备用。土壤有机碳采用重铬酸钾容量法测定,pH(H<sub>2</sub>O)所用液土比为2.5:1。

表1 试验土壤基本性质

Table 1 Properties of soil samples

样号 Soil	pH(H <sub>2</sub> O)	有机碳 Organic carbon (g kg <sup>-1</sup> )	采样地点及土壤名称 Sampling site and soil classification	硝态氮含量 <sup>1)</sup> Nitrate (mg kg <sup>-1</sup> )
1	8.33	7.11	陕西杨凌 土垫旱耕人为土 Yangling, Shaanxi, Earth cumul Orthic Anthrosols	20.50±1.98
2	7.27	18.53	江苏常熟 潜育水耕人为土 Changshu, Jiangsu, Gleyr Stagnic Anthrosols	70.75±1.91
3	8.73	11.99	甘肃金昌 钙积正常干旱土 Jinchang, Gansu, Calc Orthic Aridisols	13.98±0.46
4	8.84	10.46	江苏东台 潮湿正常盐成土 Dongtai, Jiangsu, Aquir Orthic Halosols	22.70±0.07
5	8.94	10.60	江苏东台 潮湿正常盐成土 Dongtai, Jiangsu, Aquir Orthic Halosols	40.62±3.57
6	5.02	2.88	江西鹰潭 富铝湿润富铁土 Yingtian, Jiangxi, Allitr Udic Ferrisols	4.00±0.14

1) 1 mol L<sup>-1</sup> KCl 提取,流动分析测定 extracted with 1 mol L<sup>-1</sup> KCl, analyzed by Flow Analysis

## 1.3 毛细管电泳条件选择

**1.3.1 电泳基本条件** 各阴离子用紫外法在254 nm间接检测,铬酸钠为背景电解质,十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)为电渗流改性剂。阴极进样,阳极检测。毛细管内径50 μm,总长67 cm,进样端到检测窗口长度为60 cm。通过仪器的液体恒温系统将毛细管温度恒定在20±0.1℃。除非特别说明,电泳电压均为25 kV。每次进样前用缓冲液清洗毛细管2 min。每次开机后用离子混合标准液电泳4次,待仪器状态稳定后更新缓冲液开始正式测定。

**1.3.2 缓冲液酸碱性** 在待稀释的工作缓冲液中每100 ml(定容后体积)分别加入一定浓度的NaOH溶液0.00、1.00、2.00、3.00和4.00 ml,定容、摇匀。分别用以上缓冲液对含有20 mg L<sup>-1</sup> Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、40 mg L<sup>-1</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>和100 mg L<sup>-1</sup> CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>的混合标准液电泳测定,探讨加入不同体积NaOH溶液对不同离子迁移时间和分离效果的影响。

**1.3.3 电泳电压** 分别在25 kV和20 kV下用每100 ml缓冲液加入1.00 ml上述NaOH溶液的工作缓冲液(以下称为标准工作缓冲液)对含有20 mg L<sup>-1</sup> Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>的混合标准液进

行电泳分离,重复3次,探讨电泳电压对各离子峰高和峰面积的影响。

**1.3.4 线性范围、重现性和检测限** 配制Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>和CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>浓度均为1 000 mg L<sup>-1</sup>(贮备液I)和Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>浓度均为1 000 mg L<sup>-1</sup>(贮备液II)两种混合标准贮备液。用贮备液I配成各离子浓度为0、1、2、4、10、20、30、40、50、100 mg L<sup>-1</sup>的标准系列,毛细管电泳法测定各阴离子,作标准曲线,探讨测定的线性范围。用贮备液II配制各离子浓度为20 mg L<sup>-1</sup>的标准液,用标准工作缓冲液连续分离3次,计算各离子迁移时间、峰面积和峰高的相对标准差。以信噪比(S/N)等于3为依据求各离子检测限。

**1.3.5 回收率** 取2号土样提取液2份各50 ml,分别加入25 ml、50 ml含10 mg L<sup>-1</sup> Cl<sup>-</sup>、20 mg L<sup>-1</sup> SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、30 mg L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、10 mg L<sup>-1</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>的混合标准溶液,混匀,用标准工作缓冲液测定混合液中各离子的含量,计算回收率。

## 1.4 土壤待测液制备方法

用2号和6号土样试验。称取风干土10.00 g,加水50.00 ml,分别静止提取1、2、4、8、12、16、20和

24 h, 倾出上清液, 13 625 g 离心 5 min, 上清液过滤。滤液过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜后超声波脱气 10 min, 用标准工作缓冲液毛细管电泳法分析。探讨不同提取时间对不同类型土壤无机阴离子的提取效果。

### 1.5 土壤无机阴离子毛细管电泳和离子色谱分析

用 1~5 号土样进行测定。各土样称取 2 份, 按 1.4 提取 24 h 制成待测液供毛细管电泳和离子色谱分析。每个待测液用毛细管电泳测定 2 次, 离子色谱测定 1 次。毛细管电泳选择标准工作缓冲液进行分离, 每组缓冲液电泳 3 次即行更新。以各离子的峰面积作为计算浓度的依据。

### 1.6 土壤硝态氮流动注射分析

用 1~5 号土样分析。称取风干土 10.00 g, 加入 1 mol L<sup>-1</sup> KCl 溶液 50.00 ml, 振荡 30 min, 过滤, 用流动分析仪测定其中的硝态氮含量。每个土样重复 2 次。

1.5 和 1.6 中各离子测定结果以 mg kg<sup>-1</sup> 风干土表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 测定条件选择

**2.1.1 缓冲液酸碱性** 工作缓冲液的酸碱性对毛细管电泳无机阴离子测定主要有两方面的影响:

(1) 调节缓冲液酸碱性时加入的电解质引起毛细管中液体的电阻减小, 缩短离子迁移时间。此外, 缓冲液离子强度还会影响多电荷离子的实际半径, 从而影响离子的淌度<sup>[13]</sup>。(2) 影响样品中两性离子(如磷酸根和碳酸根)的解离程度, 从而改变离子的荷质比, 影响碳酸根和磷酸根的出峰顺序(图 1)(相对迁移时间: 以碳酸根的迁移时间比磷酸根的迁移时间, 所得结果为碳酸根的相对迁移时间, 磷酸根的相对迁移时间为 1)。在加入 NaOH 的数量范围内, 氯离子、硫酸根和硝酸根三者都是首先出峰, 并且三者间的先后顺序不受加入 NaOH 溶液数量影响。不同离子在毛细管电泳中的出峰顺序与离子的淌度有关, 而缓冲液酸碱性的改变将改变两性离子的解离程度, 从而影响其到达检测器所需的时间。

加入上述 NaOH 溶液体积在 0.00~4.00 ml 之间时, 缓冲液的 pH 变化范围为 8.0~11.8, 正好包括了碳酸根的 pK<sub>a2</sub>(10.25), 因此影响碳酸根的二级解离。当加入上述 NaOH 的体积达到 3.00 ml 时, 碳酸根解离为碳酸根, 所带电荷增加 1 倍, 淌度增大, 出峰提前; 而当加入 1.00 ml 上述 NaOH 时, 碳酸

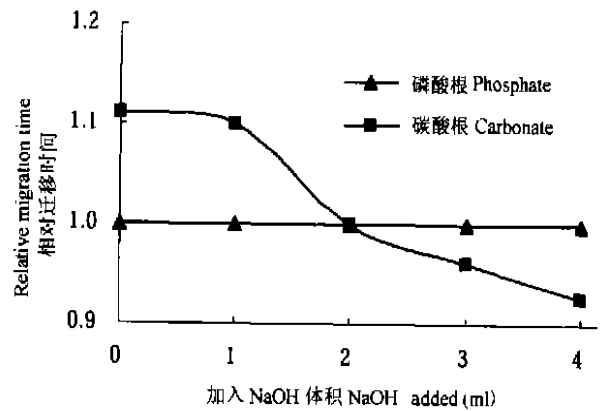


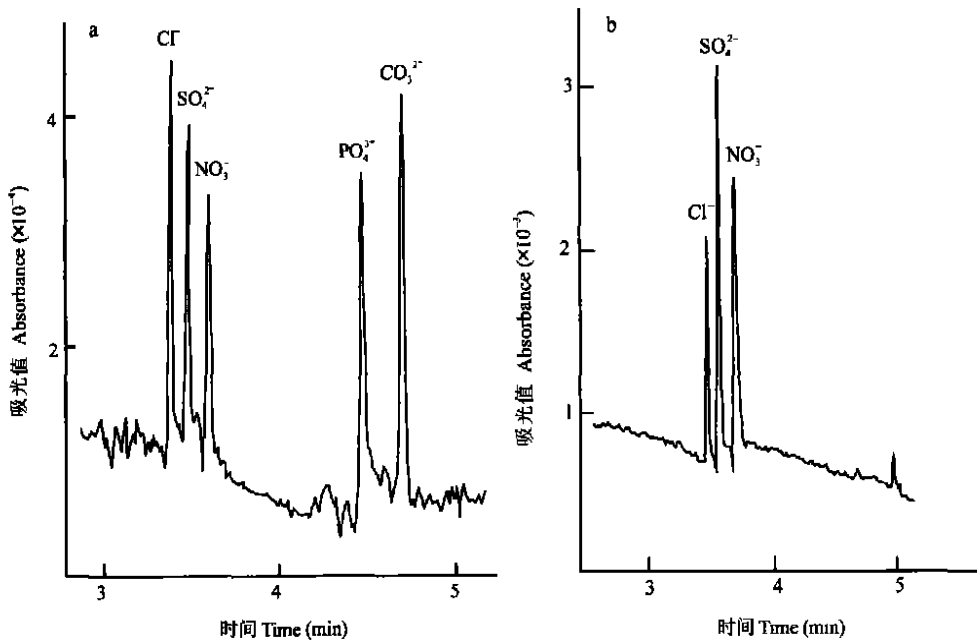
图 1 缓冲溶液中加入氢氧化钠溶液体积对磷酸根和碳酸根迁移时间的影响

Fig 1 Effect of addition of sodium hydroxide in the working solution on the relative migration time of phosphate and carbonate

根不发生二级解离, 淌度减小, 在磷酸根之后出峰。加入 2.00 ml 上述 NaOH 时, 碳酸根和磷酸根不能完全分离。而加入以上体积的 NaOH 溶液不会影响磷酸根的解离, 因此其所带电荷不会发生变化, 迁移时间的变化仅由电流和离子半径变化引起。

根据试验结果, 本试验选择加入 1.00 ml NaOH 溶液的缓冲液组成, 其 pH 在 10.0 左右, 可使磷酸根在碳酸根前出峰, 有利于磷酸根的定量测定(图 2a)。与不加 NaOH 的缓冲液相比, 这种缓冲液组成电流强度大, 出峰时间缩短, 峰形对称性较好。利用所选的缓冲液组成, 在 25 kV 下, 氯离子、硫酸根、硝酸根、磷酸根和碳酸根 5 个无机阴离子的分离可在 5.0 min 内完成(图 2)。加上进样前清洗毛细管的时间, 每个样品的测定可在 8.0 min 以内完成, 分离 3.0 min 时电流强度在 12.5~13.5  $\mu\text{A}$  之间(因一次分离过程中电流持续缓慢上升, 本文选择 3.0 min 时的电流表示)。

**2.1.2 电泳电压** 增大电泳电压, 引起氯离子、硫酸根、硝酸根和磷酸根 4 个离子的峰形明显变化(表 2): 峰面积和峰高均变小, 但峰面积变化率远大于峰高。对于这 4 个阴离子, 在试验条件下, 电压对不同离子峰面积的影响基本相近, 不同阴离子的峰面积变化率均在 25% 左右。但电压增大引起峰高的变化率却随着离子迁移时间的延长而变小。也就是说, 当电泳电压从 20 kV 升高到 25 kV 时, 4 个阴离子的峰形都变瘦, 离子出峰越晚, 其变化幅度越大。电泳电压小, 离子形成的区带经过检测窗口时所需要的时间长, 因此形成的信号持续时间长, 峰形较胖。



a. 标样: 各离子均为  $3 \text{ mg L}^{-1}$  Standard:  $3 \text{ mg L}^{-1}$  each

b. 土样水提取液 Soil water extract

电泳条件: 电压:  $-25 \text{ kV}$ ; 背景电解质: 铬酸钠; 电渗流改性剂: 十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB); 毛细管: 内径:  $50 \mu\text{m}$ ; 总长:  $67 \text{ cm}$ ; 进样端到检测器长度:  $60 \text{ cm}$ . 缓冲液  $\text{pH} = 10.0$ . 电泳细节正在申请专利 Separation conditions: Voltage:  $-25 \text{ kV}$ ; BGE: sodium chromate; EOM: CTAB; capillary: i. d.,  $50 \mu\text{m}$ , total length:  $67 \text{ cm}$ ; length from sample introduction to detection window:  $60 \text{ cm}$ ,  $\text{pH} = 10.0$  Details of electrophoresis are under patent application

图 2 典型无机阴离子的毛细管电泳图谱

Fig 2 Typical electropherogram of anions

表 2 电泳电压对不同离子峰形的影响

Table 2 Effect of separation voltage on the peak shape of different anions in CE

离子 Anion	变化率 Rate (%) <sup>1)</sup>		峰面积/峰高 Peak area/Peak height	
	峰面积 Peak area	峰高 Peak height	20 kV	25 kV
氯离子 Chloride	24.63	10.82	27.20	23.66
硫酸根 Sulfate	26.52	12.67	29.12	25.32
硝酸根 Nitrate	23.37	8.16	31.93	27.44
磷酸根 Phosphate	25.57	2.67	63.72	50.60

1) 变化率 = (20 kV 时测定值 - 25 kV 测定值) / 两种电压的平均值 Rate = (value at 20kV - value at 25 kV) / mean

**2.1.3 线性范围、重现性和检测限** 结果显示 (表 3), 当待测液各离子浓度在  $0 \sim 100 \text{ mg L}^{-1}$  范围内, 毛细管电泳对氯离子、硫酸根、硝酸根和磷酸根的测定有很好的线性相关性, 而碳酸根的相关性较差。此外, 峰高与峰面积相比, 前者与浓度的线性相关性差。因此, 在样品测定中, 均选择峰面积作为定量的基础。从氯离子到碳酸根, 峰高与浓度的相关系数逐渐变小。这是由于这五个离子的出峰时间逐渐变大, 峰的对称性逐渐变差, 导致峰高与峰面积的比例关系丧失。离子的出峰时间越长, 其淌度与背

景电解质差异越大, 最终导致失去定量测定的基础。由于碳酸根的相关性较差, 因此在样品分析中未对其进行定量。毛细管电泳对 4 种无机离子的检测限在  $0.4 \sim 0.6 \text{ mg L}^{-1}$  之间 (表 3)。对于农业土壤来说, 用水作提取剂所得提取液中的无机离子的浓度一般不会超过  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , 因此这一测定浓度的上限是可以满足需要的。

**2.1.4 回收率** 各离子的回收率较好, 变化在  $92.4\% \sim 107.4\%$  之间 (表 4), 表明所选择的方法对测定土壤提取液中的无机离子有一定的适用性。

表 3 毛细管电泳法测定无机阴离子的回归曲线方程和检测限

Table 3 Calibration equations and limits of detection (LODs) of different anions determined by CE

离子 Anion	相对标准差 RSD (%)			相关系数 $r$		检测限 LOD ( $\text{mg L}^{-1}$ )
	迁移时间 Migration time	峰面积 Peak area	峰高 Peak height	吸光值 峰面积 Absorbance Peak area	吸光值 峰高 Absorbance Peak height	
氯离子 Chloride	0.32	5.67	2.60	0.9993	0.9951	0.46
硫酸根 Sulfate	0.36	0.43	1.97	0.9992	0.9699	0.56
硝酸根 Nitrate	0.39	3.44	1.06	0.9995	0.9849	0.47
磷酸根 Phosphate	0.59	5.37	5.09	0.9995	0.9722	0.47
碳酸根 Carbonate	0.30	10.4	2.78	0.9970	0.9633	—

表 4 毛细管电泳法测定土壤无机阴离子的回收率

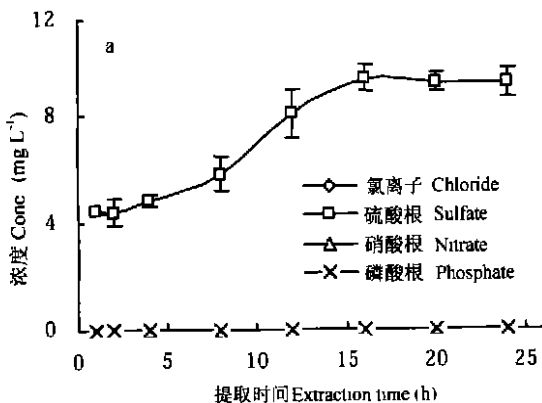
Table 4 Recovery rate of inorganic anions incorporated to soil aqueous extract determined by CE

离子 Anion	样品原有 Initial (mg)	加入量 Added (mg)	检出 Found (mg)	回收率 Recovery (%)
氯离子 Chloride	250.5	250	498.4	99.2
硫酸根 Sulfate	701	500	1193	98.4
硝酸根 Nitrate	1613.5	750	2388	103.3
磷酸根 Phosphate	ND	250	231	92.4
		500	471	94.2

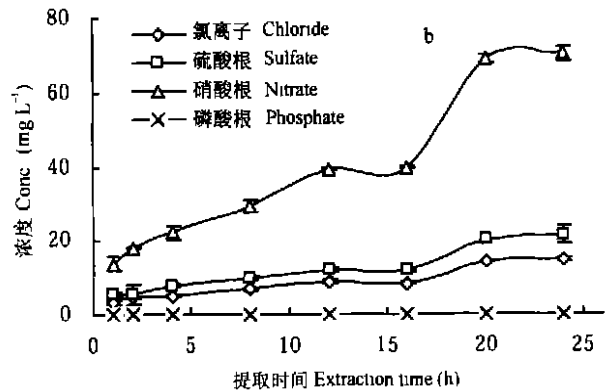
## 2.2 提取液的影响

2 号和 6 号土样在性质和养分数量上存在较大差异。结果显示(图 3), 提取时间对不同土壤阴离子提取量的影响不同。另外, 水对土壤磷的提取能力很弱。两种土壤中  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$  和  $\text{PO}_4^{3-}$  4 种

无机阴离子含量差异较大, 对于养分贫乏的富铝湿润富铁土, 24 h 只能提取到  $\text{SO}_4^{2-}$ 。为了使土壤提取液待测离子达到较高水平, 后续测定中选择 24 h 的提取时间。



a. 富铝湿润富铁土 Alliti-Udic Ferrisols



b. 潜育水耕人为土 Gleyi-Stagnic Anthrosols

图 3 提取时间对阴离子提取量的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on the anion concentration in extract

### 2.3 样品测定结果

用毛细管电泳和离子色谱对同一样品的水提取液(静止提取 24 h)提取液中的无机阴离子的分析结果(表 5)表明,毛细管电泳对大部分离子的测定结果的精确性较好,重复测定的标准差较小。与离子色谱的测定结果相比,毛细管电泳对各无机阴离子的测定结果与后者有较好的一致性。但少数结果与离子色谱差异较大,毛细管电泳对部分样品平行测定的相差也较大,这是毛细管电泳法的缺点之一<sup>[14]</sup>。试验中所用的样品均未检测到提取液中磷

的存在,这与 Zbiral<sup>[10]</sup>用均苯四酸(PMA)作背景电解质、水作提取剂用毛细管电泳法测定土壤无机阴离子的结果一致。磷是植物重要的必需营养元素之一,对其检测有重要意义。因此,试验中不能检测到磷使测定结果的重要性大大降低。有必要对土壤提取液的制作过程进行改进,使提取液中有较多的磷存在,并适合毛细管电泳的测定。对比测定结果发现,毛细管电泳与离子色谱对土壤无机阴离子测定结果在较低浓度和较高浓度的测定结果差异均较大。

表 5 土壤无机阴离子的毛细管电泳(CE)和离子色谱(IC)测定结果

Table 5 Soil anion analysis results determined by Capillary Electrophoresis (CE) and Ion Chromatography (IC)

样号 Soil	方法 Methods	氯离子 Chloride (mg kg <sup>-1</sup> )		硫酸根 Sulfate (mg kg <sup>-1</sup> )		硝酸根 Nitrate (mg kg <sup>-1</sup> )	
		平均值 Mean	标准差 SD	平均值 Mean	标准差 SD	平均值 Mean	标准差 SD
1	CE	5.20	2.48	40.84	0.07	81.56	6.12
	IC	6.00	0.56	38.72	1.80	73.40	1.13
2	CE	50.10	5.03	71.07	2.84	161.4	11.18
	IC	48.75	6.50	70.12	5.41	161.6	12.97
3	CE	45.60	1.41	92.32	14.35	0.00	0.00
	IC	40.15	1.63	99.20	1.34	9.82	0.32
4	CE	215.6	15.09	47.88	10.85	55.64	11.27
	IC	174.6	14.11	42.78	1.17	58.42	4.49
5	CE	216.9	28.32	46.12	8.83	73.28	6.41
	IC	167.4	13.65	41.50	5.66	56.08	4.70

注:土壤用水静止提取 24 h 后测定。每个土样提取 2 份,每份提取液用毛细管电泳测定 2 次,离子色谱测定 1 次。Note: Soil samples were extracted by water without agitation for 24 h. Two extracts were prepared for each soil sample, each extract was tested with CE twice, IC one time.

对于硝态氮的测定,用表 1 中 1 mol L<sup>-1</sup> KCl 提取、流动分析测定结果的平均值为自变量,表 4 中水静止提取 24 h、毛细管电泳分析结果平均值为因变量,进行直线回归,得到如下相关方程:  $y = 2.23x - 10.86$ ,  $r = 0.8516$ , 两种测定方法结果线性相关性达到一定的显著水平( $p < 0.10$ )。对于大部分样品,流动注射分析结果小于毛细管电泳。这说明对于硝酸根含量较高的土壤,水静止提取法提取 24 h 提取量要大于 KCl 振荡提取 0.5 h 的提取量。两种结果的相关性表明,毛细管电泳对硝态氮的测定结果在一定程度上可反映土壤速效氮养分状况。

### 3 结论

建立了以铬酸钠为背景电解质、以十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)为电渗流改性剂、间接紫外检测法为检测手段的毛细管电泳法测定土壤水提取液中

氯离子、硫酸根、硝酸根的方法,测定结果与离子色谱有很好的-致性,并且有一定的精确性。但对于试验所选土壤,磷酸根的提取量未能达到毛细管电泳和离子色谱检测的检测限。毛细管电泳测定结果的精确性不及离子色谱。

土壤中离子的联合提取、测定是提高土壤分析效率的重要方向,毛细管电泳的出现为这一目标的实现提供了新的途径。毛细管电泳重现性低的主要原因是测定过程中毛细管内壁很难保持清洁,管壁性质在相邻两次测定间难以保持相同<sup>[14]</sup>。此外,由于方法所用的毛细管的内径很小,因此导致测定的灵敏度下降<sup>[15]</sup>;与毛细管电泳相比,离子色谱是一项更加成熟的分析技术<sup>[14]</sup>,这也是为什么 90% 的离子色谱的用户是使用者,而 95% 的毛细管电泳的用户是研究者,而仅有 5% 的用户是使用者<sup>[16]</sup>。因此,对毛细管电泳法测定土壤无机阴离子的条件进行进一步的优化仍有一定意义。

从本文结果和前人研究来看,与离子色谱相比,毛细管电泳对土壤无机阴离子测定虽然快速、试剂消耗和费用低,但精确性较低。由于测定机理的不同,毛细管电泳只能对与背景电解质淌度相近的离子实现较准确的测定,因此各离子测定的精确性有差异。而离子色谱测定的精确性与离子的出峰顺序无关。但是,与离子色谱相比,毛细管电泳仪器简单,操作简便,试剂消耗少。因此,两种仪器各有其优缺点,应服务于不同的测定目的。

在本文选定测定条件下,毛细管电泳可实现对氯离子、硫酸根、硝酸根和磷酸根的测定,测定结果包括了土壤中主要的和重要的无机阴离子。这些测定结果除了反映土壤氮磷养分状况外,其中的氯离子、硫酸根含量对于盐成土离子分析的意义更大。

从试验结果看,在选定电泳条件下,实现磷酸根的有效提取显得更加重要。传统的土壤磷提取方法是用浓度在  $0.01 \sim 1.0 \text{ mol L}^{-1}$  级的盐或酸溶液振荡提取。而毛细管电泳所用缓冲液的缓冲剂浓度在  $\text{mmol L}^{-1}$  级左右,缓冲能力较小。如果用提取能力较强的盐溶液(如  $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ )作提取剂,提取液中磷的浓度将大大提高。但是,这种提取液中其他离子的浓度也将大大提高,可能造成分离困难;另一方面,当一种离子的浓度特别高时,其他离子的峰将会被这一离子所掩盖,不能实现测定<sup>[17]</sup>。然而用纯水作提取剂,其提取能力又很弱,使磷达不到测定要求。

造成毛细管电泳测定土壤磷酸根困难的主要原因是其在土壤中的含量过低及其可代换性差。在用  $\text{NaHCO}_3$  提取时,土壤磷含量的测定值通常在  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  数量级,而对于非盐化土壤,其用水提取的氯离子、硫酸根含量通常在  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  级。此外,磷酸根是易被土壤胶体所吸附的阴离子,不易进入水相中。由于以上两点原因,不管用什么方法提取,提取液中氯离子、硫酸根与磷酸根的浓度比值都是一个较大的数值,导致在毛细管电泳图谱上二者的峰面积相差过大,磷酸根不能被测定或测定误差大。试验表明,如果采用合适的分析条件,把磷酸根与其浓度相近的有机酸根同时测定,也可实现其用毛细管电泳定量<sup>[11]</sup>,但这种测定条件不能测定氯离子、硫酸根、硝酸根等离子。

致谢 高亚军博士、杨炳成先生、刘春卿女士提供土样,钱薇女士对毛细管电泳仪使用进行指导,特此表示感谢!

## 参考文献

[1] 傅小芸,吕建德. 无机阴离子的毛细管电泳分析. 分析化学.

1994, 22: 1 019~ 1 021. Fu X Y, Lu J D. Capillary electrophoresis of inorganic anions (In Chinese). Chinese Journal of Analytical Chemistry, 1994, 22: 1 019~ 1 021

- [2] 袁东星,董秋云,杨原. 环境水样中无机阴离子的高效毛细管电泳分析. 分析化学, 1993, 21: 1 162~ 1 164. Yuan D X, Tong Q Y, Yang P Y. Analysis of inorganic anions in water samples by high performance capillary electrophoresis (In Chinese). Chinese Journal of Analytical Chemistry, 1993, 21: 1 162~ 1 164
- [3] 刘嘉松. 毛细管电泳技术用于饮用水中常见阴离子的分析. 分析化学, 1995, 23: 365. Liu J S. Capillary electrophoresis analysis of common anions in drinking water (In Chinese). Chinese Journal of Analytical Chemistry, 1995, 23: 365
- [4] Oehrlé S A, Blanchard R D, Stumpf C L, *et al.* Environmental monitoring of waste water using capillary ion electrophoresis. Journal of Chromatography, 1994, 680: 645~ 652
- [5] Wildman B J, Jackson P E, Jones W R, *et al.* Analysis of anion constituents of urine by inorganic capillary electrophoresis. Journal of Chromatography, 1991, 546: 459~ 466
- [6] Fung Y, Lau K. Development and validation of analytical methodology using capillary electrophoresis for separation and determination of anions in rainwater. Talanta, 1998, 45: 641~ 656
- [7] Hüssa T, Siren H, Kotiaho T, *et al.* Quantification of anions and cations in environmental water samples, measurements with capillary electrophoresis and indirect UV detection. Journal of Chromatography A, 1999, 853: 403~ 411
- [8] Zhou D, Chen H. Effect of Cr(VI) and *p*-chloroaniline interaction on their reaction behaviors on soil colloids. Pedosphere, 1999, 3: 233~ 242
- [9] Stahl R. Routine determination of anions by capillary electrophoresis and ion chromatography. Journal of Chromatography A, 1994, 686: 143~ 148
- [10] Zbiral J. Determination of some inorganic anions in soil extracts and atmospheric deposition using capillary electrophoresis. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1998, 29: 1 585~ 1 592
- [11] Ahumada I, Mendoza J, Ascar L. Determination of organic acids and phosphate in soil aqueous extracts by capillary zone electrophoresis. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1999, 30: 213~ 220
- [12] O'Flaherty B D, Barry E F, Cholli A L. A rapid soil nutrient sensor device based on capillary zone electrophoresis. Journal of Environmental Science and Health A, 2000, 35: 189~ 201
- [13] Kuban P, Kuban P, Kuban V. Capillary electrophoretic determination of inorganic anions in the drainage and surface water samples. Journal of Chromatography A, 1999, 848: 545~ 551
- [14] Fritz J S. Recent development in the separation of inorganic and small organic ions by capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, 2000, 884: 261~ 275
- [15] Timerbaev A R, Buchberger W. Prospects for detection and sensitivity enhancement of inorganic ions in capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, 1999, 834: 117~ 132
- [16] Yeung K K-C, Lucy C A. Improved resolution of inorganic anions in capillary electrophoresis by modification of the reversed electroosmotic

flow and the anion mobility with mixed surfactants. *Journal of Chromatograph A*, 1998, 804: 319~ 325

[17] Arce L Ríos A, Valcarcel M. Direct multiparametric determination of

anions in soil samples by integrating online automated extraction/ filtering with capillary electrophoresis. *Fresenius Journal Analytical Chemistry*, 1998, 360: 697~ 701

## QUANTIFICATION OF INORGANIC ANIONS IN SOIL BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Li Liping Zhang Jiabao Zhu Anning Xing Weiqin

(*State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China*)

**Abstract** Compared with ion chromatography (IC), for inorganic ion analysis capillary electrophoresis (CE) has its advantages, such as low consumption of reagent and time and low cost and its disadvantages, like low reproducibility and limited sensitivity. Analysis of soil aqueous extract for inorganic ions by CE is one of the fields that have been explored, however, so far the result of CE has not been matched to those of the popularly used methods, such as flow analysis (FA) of nitrate. This work focused on further study of parameters affecting the CE analysis of inorganic anions in soil, and comparison of its result with those of IC and FA. With the aid of the electrophoresis system using sodium chromate as the background electrolyte, cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) as the electroosmotic flow modifier and indirect ultraviolet detection method, length of soil extraction duration, effect of separation voltage and pH of the working buffer of capillary electrophoresis (CE) on quantification of inorganic anions were investigated. Using the chosen analytical condition, chloride, sulfate, nitrate and phosphate can be quantified in less than 5 min. Based on these results, chloride, sulfate and nitrate in soil water extract were analyzed by CE in five soil samples from different places in China, the results were consistent with that of IC. However, phosphate in the soil extract after extracting for 24 h without agitation was still under the limit of detection (LOD) of CE and IC, and the CE is relatively lower in precision compared with IC. A positive linear correlation of  $p < 0.10$  was found between soil nitrate extracted with water, determined by CE and that extracted with  $1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl, determined with FA.

**Key words** Soil; Capillary electrophoresis; Inorganic anion; Quantification