

# 桑色素络合测定酸性土壤溶液中无机单核铝的方法比较\*

陈荣府<sup>1,2</sup> 杨小弟<sup>3</sup> 沈仁芳<sup>1†</sup>

(1 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),南京 210008)

(2 中国科学院研究生院,北京 100039)

(3 南京师范大学化学与环境科学学院,南京 210097)

**摘 要** 选择桑色素(Morin)作络合试剂,运用高效液相色谱(HPLC)和荧光分光光度计测定了酸性土壤溶液中的无机单核铝。由分析试剂与铝的比例、络合试剂的溶解介质及缓冲液的 pH 等的不同形成三种不同的方法。通过比较三种方法的线性范围、准确度和精密度及方法间的相关性,结果表明,采用乙醇溶解的桑色素( $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ )在 pH4.0 的  $1.0 \text{ mol L}^{-1}$  乙酸铵-乙酸缓冲体系中反应后,荧光分光光度计( $\text{Ex} = 403.3 \text{ nm}$ ,  $\text{Em} = 490 \text{ nm}$ )测定酸性土壤溶液中无机单核铝更适宜。

**关键词** 桑色素;无机单核铝;铝-桑色素配合物;荧光;酸性土壤;方法比较

**中图分类号** S153.1;O657

**文献标识码** A

铝在地壳中的丰度仅次于氧和硅而位居第三,它主要以硅酸盐和氧化物的形式存在于矿物中。不同的环境条件下,铝形成不同的形态,铝与无机或有机配体的结合决定了它在环境中的传输、固定和生物毒性<sup>[1]</sup>。在 pH6~8 范围内存在于土壤矿物中的铝基本不溶于水,但是在酸性土壤中,土壤溶液中铝的形态主要有自由铝( $\text{Al}^{3+}$ )、羟基铝络合物( $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_3$  和  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ )、氟化铝( $\text{AlF}_2^+$ 、 $\text{AlF}_2^+$  和  $\text{AlF}_3$ )、铝的硫酸、磷酸和硝酸复合物( $\text{Al}(\text{SO}_4)^+$ 、 $\text{Al}(\text{SO}_4)_2^-$ 、 $\text{AlHPO}_4^+$ 、 $\text{AlH}_2\text{PO}_4^{2+}$  和  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ )、铝的硅酸盐复合物和胶体颗粒以及天然有机配体形成的有机铝(Al-Org)和聚合铝(Al-Poly)等<sup>[2]</sup>。它们的分布取决于环境体系的 pH、不同配体的浓度和总溶解有机碳等<sup>[3,4]</sup>。近几十年来由于酸雨和化肥的不合理施用,大量的土壤及河流湖泊发生了不同程度的酸化,导致大量的铝从缓冲能力较差的土壤矿物中溶解出来。

生物毒理学研究表明无机单核铝( $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$  和  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ )毒性最大,聚合铝次之,而 Al-F 和 Al-Org 的毒性大为降低甚至消失<sup>[4]</sup>。因此,分析测定不同形态的铝对于研究铝的生物有效性和毒性有重要的意义。

根据国际纯粹和应用化学协会(IUPAC)对元素形态概念的最新定义,铝的形态分析可以分为“组形态(fractionation)”和“单形态(speciation)”分析<sup>[3]</sup>。目前,文献报道的铝形态的测定方法有多种,其中有氟离子电极法<sup>[5~7]</sup>、高效液相色谱法<sup>[8~11]</sup>、荧光分光光度法<sup>[12]</sup>、以及电化学方法<sup>[13,14]</sup>和各种联用技术等,但是,联用技术方法复杂且代价高,而且由于土壤是一个复杂的混合体系,土壤溶液的组成比纯溶液和天然水体要复杂得多,土壤溶液中铝的形态多种多样,影响其形态变化的因素包括土壤矿物组成、土壤 pH、水分含量、植物生长及土壤微生物等。因此,建立土壤溶液中致毒铝形态的简便测定方法更为重要。另一方面,既然毒性铝形态,尤其是最毒的铝形态,是“不稳定单核铝”,因此有必要采取措施测定这一“组形态”而不是“单形态”。黄酮醇桑色素(Morin, 3,5,7,2,4-pentahydroxyflavone)和槲皮素(quercetin)对铝的攻击性较 8-羟基喹啉(8-HQ)要弱得多,即它们对铝的竞争络合能力小于其他配体,如  $\text{F}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、有机酸根等与铝的络合能力,被认为是具有“微小扰动(minimized disturbance)”的试剂<sup>[15,16]</sup>,只能结合一些最不稳定的单核铝形态,而这种弱势恰恰是形态分析所需要的。桑色素能够选

\* 国家自然科学基金项目(40371072、30571114)和中国科学院国际合作伙伴计划项目(CXTD-Z2005-04)资助

† 通讯作者, Tel: 025-86881563; E-mail: rfshen@issas.ac.cn

作者简介:陈荣府(1980~),博士研究生,主要从事植物耐铝机制与土壤溶液铝形态的研究

收稿日期:2006-04-26;收到修改稿日期:2006-08-18

择性地与铝形成深黄绿色的并带有荧光的配合物。Will<sup>[17]</sup>建立了用桑色素荧光测定微摩尔级浓度的铝的条件。Lian等<sup>[10,11]</sup>建立了柱前桑色素衍生—RP—HPLC(反相液相色谱)分离—荧光检测直接测定无机单核铝的新方法。该方法的最大特点是只有最不稳定的游离铝和羟基铝能够与桑色素反应,显示出独特的对毒性最大的铝形态( $Al = Al^{3+} + Al(OH)^{2+} + Al(OH)_2^+$ )的选择性。但这些方法直接应用于酸性土壤溶液的测定还未见详细的报道。

本研究探索了几种测定方法包括用Morin(桑色素)作为柱前衍生试剂 HPLC 荧光测定不稳定单核铝的方法—桑色素络合荧光分光光度法测定无机单核铝,并比较了不同方法的优缺点,可为酸性土壤溶液中铝离子形态分析提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Thermo ORION 868 型 pH 计,配备复合电极(E-201-C 型,雷磁,上海)。荧光分光光度计(F96 型,棱光,上海),配备 1cm 石英荧光比色皿和 F96 定性定量数据处理软件包。高效液相色谱(LC-10 AT<sub>VP</sub> 型,岛津,日本),配备有脱气装置 DDU-14AM,四元梯度泵 LC-10 AT<sub>VP</sub>,柱温箱 CTO-10A VP,自动进样器(SIL-HTA,岛津,日本),荧光检测器(RF 10A XL,岛津,日本)和内径 6 mm,长 150 mm 的分离柱(CLC-ODS,岛津,日本),工作站是 Class VP。ICP-AES(IRIS-Advantage, Thermo Elemental, 美国)。

1000 mg L<sup>-1</sup> 铝标准液(AAS 级,Fluka, 瑞士),实际使用时按需稀释。

桑色素(SIGMA, 德国),在甲醇(HPLC 级)或无水乙醇中配制成 0.01 mol L<sup>-1</sup> 的储备液保存在 4 冰箱中。

1.0 mol L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>OAc-HOAc 缓冲液:称取一定量的乙酸铵固体,用适量水溶解,以乙酸调节 pH 至 4.0 或 4.5,分别用水稀释至一定体积。

高氯酸为优级纯,其余试剂均为分析纯。实验用水为 18.2 M 的超纯水(Human UP 900, 韩国)。

### 1.2 实验方法

1.2.1 方法一 HPLC 方法,本测定方法主要参考 Lian 等<sup>[11,12]</sup>的方法,并根据其测定原理将流动相做了一定的改进,具体实验步骤为:取一定量标准品或待测土壤溶液于 5 ml 离心管中,先加入 200 μl 1.0 mol L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>OAc-HOAc 缓冲液(pH 4.5),再加入 400

μl 1.0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> 桑色素(甲醇配制),再加入 1200 μl 甲醇(HPLC 级),最后加入纯水使总体积达 4 ml。超声波振荡 3 min 冷却到室温后 HPLC 荧光测定(Ex = 418 nm, Em = 490 nm)。流动相:含 35% 甲醇的水溶液,用高氯酸调 pH 至 1.30,流速 1.0 ml min<sup>-1</sup>。柱温箱温度 30。进样体积 10 μl。

1.2.2 方法二 荧光光度法,试剂及其配制方法和程序同方法一,用荧光分光光度计测定,测定波长 Ex = 403.3 nm, Em = 490 nm,同时做试剂空白。

1.2.3 方法三 荧光光度法,本测定方法主要参考练鸿振等<sup>[12]</sup>的方法,并根据需要进行了修正,具体实验步骤为:取一定量标准品或待测土壤溶液于 5 ml 离心管中,先加入 200 μl 1.0 mol L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>OAc-HOAc 缓冲液(pH 4.0),再加入 400 μl 1.0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> Morin(乙醇配制),最后加入乙醇使总体积达 4 ml。超声波振荡 5 min 冷却到室温后在 Ex = 403.3 nm, Em = 490 nm 处测量荧光强度,同时做试剂空白。

在乙酸铵缓冲体系中,桑色素与铝络合形成荧光配合物  $AlH_4MOR^{2+}$ 、 $Al(OH)H_4MOR^+$  及  $Al(OH)_2H_4MOR^0$ ,在最佳的激发及发射波长下,荧光强度与铝浓度在一定范围内呈线性关系,从而可以通过测定荧光值来获得铝浓度。测定时土壤溶液样品根据方法的测定范围稀释了 20~160 倍。

### 1.3 供试土壤溶液样品

土壤样品取自中国科学院红壤生态实验站马尾松林 0~20 cm 土壤(有机质含量低),土壤母质为第四纪红粘土。土壤样品风干后混匀、磨细、过 2 mm 筛,然后进行盆栽实验。土壤溶液的收集采用 Yanai 等<sup>[19]</sup>的方法,取得的土壤溶液用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后测定。

水土比 2.5:1 时土壤 pH 4.4,土壤有机质含量 8.0 g kg<sup>-1</sup>。第四纪红粘土发育的红壤平均氟含量 677 μg g<sup>-1</sup><sup>[18]</sup>;本实验中土壤溶液中氟含量约 40 μmol L<sup>-1</sup>,SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 含量 295 μmol L<sup>-1</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 三种方法操作条件的比较

三种方法测定条件的主要区别是络合试剂与铝的比例、络合试剂的溶解介质、缓冲液 pH 和所用的测定仪器,见表 1 所示。

在 Lian 等<sup>[10,11]</sup>所采用的 HPLC 方法测定中,流

动相是 pH1.0 的含 30% 甲醇的水溶液。因色谱柱不同, 本研究对原方法根据实际情况做了修改补充, 将流动相改为 pH1.3 的含 35% 甲醇的水溶液。

Lian 等<sup>[10]</sup> 研究表明, 在固定一个铝浓度情况下, Al-Morin 复合物的荧光强度随着 morin:Al 的摩尔比增加而持续升高, 直到 morin:Al 的摩尔比达到 50 以上, 荧光强度保持不变, 过量的 morin 配体可能会由于氟离子与之竞争而导致所测定形态的结果偏高, 因此, 一般实验中 morin:Al 的摩尔比不宜超过 200。本研究三种方法中 morin:Al 的摩尔比分别为

5000~2.5、167~0.83、6.25~2.5。所以, 方法一在测定  $2.5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  以下浓度时就可能存在测定值较真实值偏高; 方法二则由于当测定  $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  以上浓度时, morin:Al 的摩尔比还不到 1 可能存在测定值偏低; 方法三测定范围相对较窄, 不会出现上述现象。

pH 值是影响铝形态测定的一个非常重要的因素。练鸿振等<sup>[12]</sup> 研究表明 Al-Morin 复合物在 pH 4.0 左右荧光强度最大。方法三相对方法二的灵敏度高的原因就是缓冲液的 pH 适当。

表 1 三种方法实验参数

Table 1 Parameters of three methods in the experiment

	方法一 Method	方法二 Method	方法三 Method
络合试剂 Complexity	$1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 桑色素(甲醇溶液) Morin (methanol solution)	$1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 桑色素(甲醇溶液) Morin (methanol solution)	$1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ 桑色素(乙醇溶液) Morin (ethanol solution)
缓冲液及 pH Buffering solution	$1.0 \text{ mol L}^{-1}$ NH <sub>4</sub> OAc-HOAc, pH4.5	$1.0 \text{ mol L}^{-1}$ NH <sub>4</sub> OAc-HOAc, pH4.5	$1.0 \text{ mol L}^{-1}$ NH <sub>4</sub> OAc-HOAc, pH4.0
超声波时间 Sonication (min)	3	3	5
ex (nm), em (nm)	418, 490	403.3, 490	403.3, 490
分析仪器 Apparatus	高效液相色谱 High-performance liquid chromatography	荧光分光光度计 Fluorimetry	荧光分光光度计 Fluorimetry
线性范围 Linear range ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	$9 \times 10^{-3} \sim 20$	0.3~60	0.25~2
检测限 Detection limit ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	$7 \times 10^{-3}$	0.16	0.1

对三种方法比较表明, 方法一相对方法二的标准曲线线性范围较宽, 灵敏度也较高。方法三与方法二比较, 线性范围太窄, 但测定灵敏度相对较高(表 1)。

## 2.2 三种方法测定结果

2.2.1 三种方法的准确度和精密度 用三种方法测定土壤溶液样品中的无机单核铝, 重复 3 次, 结果见表 2。从表中看出, 方法一的相对标准偏差在 3.07%~9.33%, 方法二的相对标准偏差在 1.72%~5.11%, 方法三的相对标准偏差仅在 0.75%~3.95%, 精密度最高, 方法一和方法二的精密度基本可满足分析要求。

2.2.2 三种方法回收试验结果 用三种方法对两个样品进行的不同浓度铝标准液回收测定结果(表 3)表明, 三种方法的准确度和精密度都能满足分析要求, 方法二的回收率最好, 达 96.1%~103%。

2.2.3 三种方法测定结果与电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)测定的比较 与 ICP-AES 测定结果比较, 三种方法测定结果均低于 ICP-AES 测定结果(表 4), 说明这三种方法分析测定的都不是总铝, 而是单核铝。由于桑色素不与 Al-F、Al-SO<sub>4</sub> 化合物反应, 而本实验中土壤溶液有机质含量和氟离子、硫酸根离子含量相对较低, 说明这几种方法可测定除 Al-F、Al-SO<sub>4</sub> 化合物以外的无机单核铝在总铝中所占的比例较高。方法一的测定结果一般低于方法二, 因为 HPLC 是在实现铝-桑色素络合物和未反应的桑色素分离后测定的荧光值, 而荧光分光光度计无法实现这种分离。

几种方法测定结果之间呈极显著的正相关关系(表 5)。其中方法二的测定结果是方法一的约 1.2 倍, ICP-AES 值是方法一的 1.3 倍; 方法二与 ICP-AES 测定结果接近。

表 2 三种方法测定无机单核铝的结果

Table 2 Measurements of inorganic monomeric Al with the three methods

	无机单核铝				标准偏差 Standard devi. ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	相对标准偏差 RSD (%)
	Inorganic monomeric Al ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )					
	重复 1 Rep. 1	重复 2 Rep. 2	重复 3 Rep. 3	平均 Average		
方法一 1 Method 1	244	233	230	236	7.23	3.07
方法二 1 Method 1	250	257	258	255	4.38	1.72
方法三 1 Method 1	241	243	237	240	3.25	1.35
方法一 2 Method 2	29.9	32.7	27.2	29.9	2.79	9.33
方法二 2 Method 2	47.7	52.6	48.9	49.8	2.54	5.11
方法三 2 Method 2	34.6	34.2	34.6	34.5	0.26	0.75
方法一 3 Method 3	9.36	8.92	10.7	9.65	0.90	9.31
方法二 3 Method 3	21.7	22.9	22.9	22.5	0.70	3.06
方法三 3 Method 3	14.4	13.9	15.0	14.4	0.57	3.95

表 3 三种方法对不同浓度铝标准溶液的回收结果

Table 3 Recovery test for inorganic monomeric Al

样品编号 Sample No.	方法一 Method			方法二 Method			方法三 Method		
	测定值 Measured ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	加入的铝 Added ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	回收率 Recovery rate (%)	测定值 Measured ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	加入的铝 Added ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	回收率 Recovery rate (%)	测定值 Measured ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	加入的铝 Added ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	回收率 Recovery rate (%)
4-1	2.02	0		2.30	0		1.50	0	
4-2	2.46	0.5	88.0	2.81	0.5	103	1.73	0.25	92.3
4-3	3.09	1	107	3.33	1	103	1.91	0.5	82.2
5-1	0.01	0		1.81	0		0.5	0	
5-2	0.53	0.5	104	3.09	1.25	103	0.75	0.25	101
5-3	1.95	2	96.9	4.21	2.5	96.1	1.00	0.5	101

注:三种方法的稀释倍数不同 Note: The three methods vary in extension rate

表 4 三种方法测定结果与 ICP-AES 测定值的比较

Table 4 Comparison between the three methods and ICP-AES in results

样品编号 Sample No.	方法一 Method ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	方法二 Method ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	方法三 Method ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	ICP-AES ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )
1	128	157	112	164
2	69.3	82.3	66.4	84.6
3	71.5	87.8	82.5	90.3
4	39.9	46.0	32.7	48.3

表 5 四种方法测定结果之间的相关分析

Table 5 Correlation between the four different methods

	回归方程 Regression equation	相关系数 $r$ Correlation coefficient $r$
方法一与方法二 Method & Method	$y = 1.27x - 4.56$	0.999
方法一与方法三 Method & Method	$y = 0.861x + 7.04$	0.911
方法二与方法三 Method & Method	$y = 0.681x + 9.83$	0.920
方法一与 ICP-AES Method & ICP-AES	$y = 1.32x - 4.92$	0.999
方法二与 ICP-AES Method & ICP-AES	$y = 1.04x - 0.178$	1.000
方法三与 ICP-AES Method & ICP-AES	$y = 1.40x - 5.83$	0.913

### 2.3 桑色素作为分析试剂测定无机单核铝的机理

桑色素(Morin)是一种五元弱酸,但在酸性条件下,只有一个氢离子可以解离;它可以与铝形成1:1、1:2和1:3(Al/morin)的络合物。但在桑色素总浓度较低时(约  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ),仅以1:1的形态为主。

8-羟基喹啉(8-HQ)、荧光镓(lumogallion)等的攻击性太强<sup>[8]</sup>,不但能与不稳定的无机单核铝配位,还能夺取部分有机结合态的铝,或其他金属离子反应,引起对有毒铝形态的过高估计<sup>[20]</sup>。Browne等<sup>[15,16]</sup>通过理论计算,证明在酸性pH范围内几种阳离子与桑色素的亲合力顺序为  $\text{Al} > \text{Fe}(\text{II}) > \text{Cu} > \text{Fe}(\text{III}) > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{Mn} = \text{Zn}$ ,且这几种阳离子与桑色素形成的复合物的荧光光谱范围均不会与Al-Morin重叠,即Al-Morin产生的荧光只来自于  $\text{Al}^{3+}$ 及其单核羟基配合物与桑色素的反应,只有最不稳定的游离  $\text{Al}^{3+}$ 和羟基铝能够与桑色素反应,显示出对毒性最大的铝形态独特的选择性,Lian等<sup>[10,11]</sup>已用RP-HPLC法研究了18种金属阳离子、4种无机阴离子、1种苯酚、7种酚酸类和有机酸及1种腐殖质对桑色素测定铝离子的影响,结果表明,在酸性条件下,铝与柠檬酸、草酸、富里酸(fulvic acid)和氟化物的复合物均不能被桑色素取代,因此本方法测定的主要是不稳定的无机单核铝。

## 3 结 论

本研究中三种方法均用桑色素作为分析试剂,但分析试剂与铝的比例、缓冲液pH和所用的测定仪器不同,导致测定结果不同。三种方法的测定值呈显著正相关,其中方法一的线性范围最宽,测定灵

敏度也较高,但在测定较低浓度时结果偏高,且仪器操作相对复杂,代价高;方法三虽测定范围相对较窄,但测定灵敏度相对也较高,准确度和精密度都高,且操作简便快速;方法二的线性范围和灵敏度介于方法一和方法三之间,但由于不能实现铝-桑色素络合物和未反应的桑色素之间的分离,导致结果明显偏高接近于ICP测定结果。因此,在测定酸性土壤溶液中无机单核铝时采用方法三更适宜。

## 参 考 文 献

- [1] 康玉芬,练鸿振,艾尔肯·牙森,等. 色谱法分析环境中铝形态的进展. 色谱, 2003, 21(1): 38~43. Kang Y F, Lian H Z, Arkin Y, et al. Speciation and fraction of aluminum in environmental systems by chromatography (In Chinese). Chinese Journal of Chromatography, 2003, 21(1): 38~43
- [2] Sposito G. ed. The Environmental Chemistry of Aluminum. 2nd Ed. Boca Raton: LEWIS Publishers, 1996. 344~351
- [3] 毕树平,杨小弟,干宁,等. 天然水中铝的形态分析及其生理毒理效应的研究. 见:国家自然科学基金委员会. 分析化学研究新进展. 北京:科学出版社, 2002. 498~507. Bi S P, Yang X D, Gan N, et al. Fractionation and speciation of aluminum in natural waters and its physiological, toxicological study (In Chinese). In: Committee of National Natural Science Foundation of China. ed. New Development of Analytical Chemistry. Beijing: Science Press, 2002. 498~507
- [4] 杨小弟,章福平,王先龙,等. 环境与生物体系中铝形态分析技术的新进展. 分析化学, 2003, 31(9): 1131~1138. Yang X D, Zhang F P, Wang X L, et al. Novel analytical techniques for fractionation and speciation of aluminum in environmental and biological systems (In Chinese). Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2003, 31(9): 1131~1138
- [5] 应启肇,漆德瑶. 用氟离子电极法测定土壤中的铝. 浙江农业大学学报, 1990, 16(1): 37~41. Ying Q Z, Qi D Y. Direct determination of aluminum in soil with fluoride ion-selective electrode (In Chinese). Acta

- Agriculture Universitatis Zhejiangensis, 1990, 16 (1) : 37 ~ 41
- [ 6 ] 徐仁扣,季国亮.用氟离子电极零点电位法区分酸性土壤溶液中无机铝离子的形态.土壤,1997,29(5):270~274. Xu R K, Ji G L. Ascertainment of inorganic aluminum species in soil solutions by fluoride electrode zero potential (In Chinese). Soils, 1997, 29(5) : 270 ~ 274
- [ 7 ] 徐仁扣,季国亮.用氟离子电极确定土壤溶液中无机单核铝的实验验证.环境化学,1998,17(1):72~78. Xu R K, Ji G L. Experimental verification of fluoride electrode procedure for characterization of inorganic monomeric aluminum species in soil solutions (In Chinese). Environmental Chemistry, 1998, 17 (1) : 72 ~ 78
- [ 8 ] Sutherland S H, Cabaniss S E. Aqueous Al ( ) speciation by high-performance cation exchange chromatography with fluorescence detection of the aluminum-fluorogallion complex. Analytical Chemistry, 1995, 67 (14) : 2342 ~ 2349
- [ 9 ] 翁建华,黄连芬,刘晓茹,等.土壤酸化及天然土壤溶液中铝的形态.中国环境科学,2000,20(6):501~505. Weng J H, Huang L F, Liu X R, et al. Acidification of soils and aluminum species in natural soil solution (In Chinese). China Environmental Science, 2000, 20 (6) : 501 ~ 505
- [ 10 ] Lian H Z, Kang Y F, Bi S P, et al. Morin applied in speciation of aluminum in natural waters and biological samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Analytical Bioanalytical Chemistry, 2003, 376 : 542 ~ 548
- [ 11 ] Lian H Z, Kang Y F, Yasin A, et al. Determination of aluminum in environmental and biological samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography via pre-column complexation with morin. Journal of Chromatography A, 2003, 993 : 179 ~ 185
- [ 12 ] 练鸿振,康玉芬,艾尔肯·牙森,等.荧光分光光度法分析天然水中铝形态的研究.光谱学与光谱分析,2004,24(11):1391~1394. Lian H Z, Kang Y F, Arkin Y, et al. Speciation of aluminum in natural waters by fluorimetry (In Chinese). Spectroscopy and Spectral Analysis, 2004, 24 (11) : 1391 ~ 1394
- [ 13 ] 干宁,雷建平,毕树平.染料-示波计时电位法测定天然水中的不同形态铝.应用化学,2003,20(2):103~107. Gan N, Lei J P, Bi S P. Determination of aluminum species in natural waters by an a. c. adsorptive oscillopolarography (In Chinese). Chinese Journal of Applied Chemistry, 2003, 20 (2) : 103 ~ 107
- [ 14 ] 干宁,雷建平,毕树平.铍试剂 / 钙色素双偶氮染料-示波计时电位法快速测定天然水中不同形态铝.分析化学,2003,31(4):420~424. Gan N, Lei J P, Bi S P. Determination of aluminum speciation in natural waters by alternating current oscilochronopotentiometry using two Di-O-hydroxyazo, Berryllon and Calcion (In Chinese). Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2003, 31 (4) : 420 ~ 424
- [ 15 ] Browne B A, McColl J G, Driscoll C T. Aluminum speciation using morin. Morin and its complexes with aluminum. J. Environ. Qual., 1990, 19 : 65 ~ 72
- [ 16 ] Browne B A, McColl J G, Driscoll C T. Aluminum speciation using morin. Principles and procedures. J. Environ. Qual., 1990, 19 : 73 ~ 82
- [ 17 ] Will F. Fluorimetric determination of aluminum in the part-per-billion range. Analytical Chemistry, 1961, 33 : 1360 ~ 1362
- [ 18 ] 徐莉英,邢光熹.土壤中的氟 I. 土壤中的氟的分布.土壤,1995,27(4):191~194. Xu L Y, Xing G X. Fluoride in soils I. Distribution of fluoride in soils (In Chinese). Soils, 1995, 27(4) : 191 ~ 194
- [ 19 ] Yanai J, Araki S, Kyuma K. Use of a looped hollowed fiber sampler as a device for nondestructive soil solution sampling from the Heterogeneous root zone. Soil Science and Plant Nutrition, 1993, 39 (4) : 737 ~ 743
- [ 20 ] 练鸿振,毕树平,田笠卿.高效液相色谱法研究铝形态的可靠性.分析化学,2004,32(12):1677~1682. Lian H Z, Bi S P, Tian L Q. Reliability of aluminum speciation by high performance liquid chromatography (In Chinese). Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2004, 32 (12) : 1677 ~ 1682

## METHODS FOR DETERMINING INORGANIC MONOMERIC ALUMINUM IN ACID SOIL SOLUTION BY MORIN

Chen Rongfu<sup>1,2</sup> Yang Xiaodi<sup>3</sup> Shen Renfang<sup>1†</sup>

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

(2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

(3 College of Chemistry and Environment Sciences, Department of Environment Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract** Morin was employed as complexing reagent in determining inorganic monomeric Al in acidic soil solution using a reversed - phase high-performance liquid chromatograph and a fluorescence spectrophotometer in this study. Three different methods, varying only in molar ratio of morin : Al, dissolving medium of the complexing reagent, and pH of the buffer solution, were proposed for comparison in linear range, accuracy, and precision, and analyzed for correlation between them. Results showed that Method (1.0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> Morin dissolved in ethanol reacted with inorganic monomeric Al in pH 4.0 acetate buffer solutions, and fluorescence was recorded by fluorescence spectrophotometer (Ex = 403.3 nm, Em = 490nm)) was the most suitable one for determining inorganic monomeric Al in acidic soil solution.

**Key words** Morin; Inorganic monomeric Al; Al-Morin complexes; Fluorescence; Acid soil; Method comparison