

碱解蒸馏法测定植烟土壤中水解性氮含量的研究

杨雪, 陶晓秋, 黄玫 (四川烟草质量监督检测站, 四川成都 610041)

摘要 [目的]在保证数据准确性和稳定性的基础上,提高工作效率以满足大批量土壤检测的需要。[方法]介绍了 FOSS Kjeltec 8400 全自动定氮仪碱解蒸馏法测定植烟土壤中水解性氮含量的过程,优化了影响试验结果的主要因素。[结果]与常规碱解扩散法进行对比,2 种方法测定土壤水解性氮的结果不存在显著差异,但达到 0.01 显著的相关水平。[结论]采用碱解蒸馏法代替扩散法是可行的。
关键词 植烟土壤;水解性氮;碱解蒸馏法;碱解扩散法
中图分类号 S572 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)17-07517-03

Determination of Hydrolysable Nitrogen Content in Tobacco Soils with Alkali-hydrolyzed Distilling Method
YANG Xue et al (Sichuan Tobacco Quality Supervision and Testing Station, Chengdu, Sichuan 610041)
Abstract [Objective] The work efficiency was improved to meet the demand of a large scale soils on the basis of the accuracy and stability of the data. [Method] The process of hydrolysable nitrogen content in tobacco soils with alkali-hydrolyzed distilling method using FOSS Kjeltec 8400 full-automatic azotometer was introduced. And the major factors that influenced the experimental results were optimized. [Result] Compared with alkali N-proliferation method, the difference of hydrolysable nitrogen contents in soils with two measuring methods wasn't significant, but was strongly correlated. [Conclusion] It is feasible to replace alkali N-proliferation method with alkali-hydrolyzed distilling method.
Key words Tobacco soil; Hydrolysable nitrogen; Alkali-hydrolyzed distilling method; Alkali N-proliferation method

氮素营养是决定烤烟生长、产量及品质的重要因素^[1]。郭培国等^[2]研究表明,烤烟全生育期吸收的总氮量的 59.8%~90.9% 来自于土壤。土壤在很大程度上影响着烟叶的烟碱含量,而水解性氮含量是影响烟叶烟碱含量的显著性土壤养分因子^[3]。水解性氮又称有效性氮,是铵态氮、硝态氮、氨基酸、酰胺和易水解的蛋白质氮的总和,是土壤氮素的重要组成部分^[4]。与土壤全氮量相比,水解性氮含量更能反映土壤近期氮素供应状况^[5]。

目前,土壤水解性氮含量的测定方法主要有酸水解法、碱解扩散法和碱解蒸馏法等^[6]。其中,酸水解法适用于有机质含量较高的土壤,但对有机质缺乏的土壤测定结果不十分理想;碱解扩散法作为一种常规分析方法设备简单,但操作较繁琐、耗时长;碱解蒸馏法适用于各种土壤,其主要原理是利用锌-硫酸亚铁还原剂能将土壤中硝态氮全部还原成铵态氮,水解、还原、蒸馏同时进行,利用硼酸吸收液吸收后氢氧化钠滴定,加快了分析速度^[7]。为了在保证数据准确性和稳定性的基础上提高工作效率以满足大批量土壤检测的需要,笔者利用 FOSS Kjeltec 8400 全自动定氮仪对碱解蒸馏法测定土壤水解性氮含量进行了优化。

1 材料与方法

准确称取 5.000 g 过 60 目的土壤样品于消煮管内,加入锌-硫酸亚铁还原剂 1.2 g(将硫酸亚铁 50 g 和锌粉 10 g 共同磨细)、水 20 ml、液体石蜡 25 滴,放置 30~60 min,在 FOSS Kjeltec 8400 全自动定氮仪上加入 4 mol/L NaOH 30 ml 和浓度 2% 硼酸-指示剂接收液(称取硼酸 20.00 g,定容至 1 L,添加 10 ml 溴甲酚绿溶液、7 ml 甲基红溶液) 20 ml,蒸汽发生功率 60%,蒸馏时间 5 min,在滴定剂桶中加入已标定的 0.01 mol/L 盐酸溶液,进入样品分析栏开始对样品进行分析。每

次分析前同时做空白试验。
土壤水解性氮含量的计算公式^[6]为:
$$w = \frac{(V - V_0) \times C \times 14 \times 1\,000}{m}$$

式中, w 为样品中水解性氮含量(mg/kg); V 为滴定样品消耗的标准盐酸含量(ml); V_0 为滴定空白消耗的标准盐酸含量(ml); C 为已标定盐酸物质的量浓度(mol/L); m 为烘干试样质量(g)。

表 1 氢氧化钠溶液浓度的选择

样品 编号	氢氧化钠浓度 mol/L	水解性氮含量//mg/kg	
		GBW07412a	GBW07414a
1	1	30	58
2	2	36	66
3	3	45	80
4	4	54	95
5	5	61	101
6	6	67	106
7	10	72	116

2 结果与分析

2.1 氢氧化钠溶液浓度的选择 将土壤样品置于全自动定氮仪中。氢氧化钠对样品进行还原和水解,使得硝态氮和易水解的氮转化为铵态氮。氢氧化钠溶液浓度的高低对测定结果有较大的影响。该研究采用 2 种土壤有效态成分分析标准物质 GBW07412a 和 GBW07414a 对氢氧化钠溶液浓度的选择进行了优化。由表 1 可知,氢氧化钠浓度对土壤水解性氮含量有较大的影响,随着氢氧化钠浓度的升高,土壤水解性氮含量逐渐升高。当氢氧化钠浓度过低时,易水解的蛋白质水解不完全,导致检测结果偏低;而当氢氧化钠浓度过高时,某些难水解蛋白质发生水解,导致检测结果偏高。试验结果表明,当氢氧化钠浓度在 4~5 mol/L 时,测定结果符合标准物质水解性氮的不确定度范围要求(GBW07414a:97

作者简介 杨雪(1983-),女,四川成都人,助理工程师,硕士,从事烟草化学成分方面的研究,E-mail:yangxueaiya@sohu.com。
收稿日期 2013-06-05

±7, GBW07412a;57±4)。因此,该试验选择氢氧化钠浓度为4 mol/L。

2.2 硼酸溶液浓度对土壤水解性氮含量的影响 该试验以常规经典方法——碱解扩散法测量值为真值,碱解蒸馏法为测量值考察浓度1%、2%硼酸吸收液对试验结果的影响。分别采用浓度1%、2%硼酸吸收液对GBW07412a、GBW07414a及土壤中高、中、低不同含量水解性氮进行了测定。由表2

可知,浓度1%硼酸对低含量水解性氮的影响较大,相对偏差大于10%,而对中、高含量水解性氮的影响较小。这是由于浓度1%硼酸溶液在空白试验中空白滴定数值偏高(大于1 ml),影响低浓度水解性氮含量测定结果的准确性。采用浓度2%硼酸作为吸收液能有效控制空白滴定值在1 ml以下,确保不同浓度水解性氮含量的准确性。

表2 硼酸溶液浓度对土壤水解性氮含量的影响

样品编号	水解性氮含量//mg/kg		碱解扩散法 mg/kg	相对偏差//%	
	浓度1%硼酸	浓度2%硼酸		浓度1%硼酸	浓度2%硼酸
GBW07412a	33	54	57	26.67	2.70
GBW07414a	90	95	97	3.74	1.04
1	67	82	84	11.26	1.20
2	42	60	63	20.00	2.44
3	63	79	80	11.89	0.63
4	82	86	84	1.20	1.18
5	129	132	130	0.39	0.76
6	117	108	114	1.30	2.70
7	250	268	256	1.19	2.29
8	229	218	220	2.00	0.46
9	295	279	286	1.55	1.24

2.3 液体石蜡对土壤水解性氮含量的影响 利用全自动定氮仪测定水解性氮反应较剧烈,产生的大量气泡携带土壤粉末,易造成管路堵塞。研究表明,加入25滴分析纯液体石蜡可有效地防止液体发泡。同时,比较了液体石蜡对测定结果的影响。由表3可知,液体石蜡对测定结果无影响,相对偏差均小于5%,并且能有效防止溶液暴沸而阻塞管路。

表3 液体石蜡对土壤水解性氮含量的影响

样品编号	使用液体石蜡水解性氮含量//mg/kg	不使用液体石蜡水解性氮含量//mg/kg	相对偏差/%
GBW07412a	54	52	1.89
GBW07414a	95	98	1.55
1	231	236	1.07
2	88	82	3.53
3	126	135	3.45

表4 碱解蒸馏法重复性试验

样品名称	日内重复性			日间重复性		
	测量值	平均值	相对标准	测量值	平均值	相对标准
	mg/kg	mg/kg	偏差//%	mg/kg	mg/kg	偏差//%
GBW07412a	53	55	2.13	58	56	2.37
	55			55		
	56			57		
	56			55		
	54			55		
	55			57		
GBW07414a	97	96	1.32	96	98	1.71
	95			97		
	95			100		
	96			97		
	98			98		
	95			100		

2.4 碱解蒸馏法重复性试验 该试验对GBW07412a、GBW07414a的日内重复性、日间重复性进行了测定。由表4可知,1 d内连续测定6个相同样品、连续6 d测定相同样品结果相对标准偏差均小于5%,说明碱解蒸馏法的稳定性好。

表5 碱解扩散法与碱解蒸馏法测定土壤水解性氮含量的比较

样品编号	碱解扩散法 mg/kg	碱解蒸馏法 mg/kg	相对偏差 %
1	177	172	1
2	140	121	7
3	198	218	5
4	156	144	4
5	122	125	1
6	175	176	0
7	84	74	6
8	114	111	2
9	222	210	3
10	52	45	7
11	68	61	5
12	137	148	4
13	117	111	2
14	98	90	5
15	45	47	2
16	94	106	6
17	264	315	9
18	33	29	6

2.5 2种方法测定结果的比较

2.5.1 相关性。该试验分别采用碱解扩散法与碱解蒸馏法2种常规经典方法对18个植烟土壤样品水解性氮含量进行了测定,结果见表5。利用回归分析,对2组数据进行统计(图1), $R^2=0.962\ 4$, $r=0.981\ 0$ ($r_{0.01}=0.561$, $n=18$), $r>$

$r_{0.01}$, 两者相关性在 0.01 水平显著, 说明碱解蒸馏法与碱解扩散法测定结果之间存在 0.01 水平显著相关关系。同时, 为了进一步验证 2 种方法的可比性, 利用 SPSS13.0 绘图统计分析软件对 2 种方法测定值进行 t 检验分析 (P 为 0.05 水平上双尾检验)。结果表明, t 值为 0.106 5, 出现的双尾概率为 0.916 4, 即在 $P = 0.05$ 的水平上碱解扩散法与碱解蒸馏法之间无明显差异, 采用任何一种测定方法均不影响试验结果, 说明利用 FOSS Kjeltec 8400 全自动定氮仪测定土壤水解性氮是可行的。

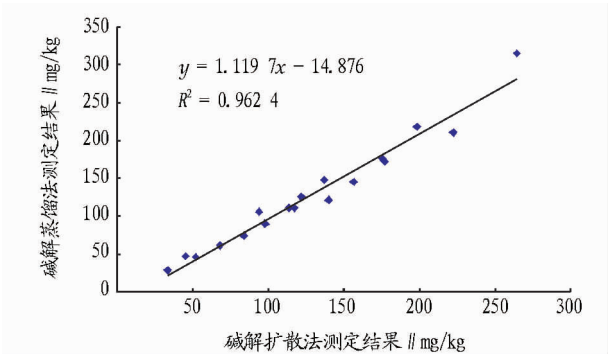


图 1 2 种方法相关性分析

表 6 2 种方法测定碱解氮含量的比较 mg/kg

样品 编号	碱解扩 散法	碱解蒸 馏法	2 种方法 的差值	2 种方法 的平均值
1	177	172	5	175
2	140	121	19	131
3	198	218	-20	208
4	156	144	12	150
5	122	125	-3	124
6	175	176	-1	176
7	84	74	10	79
8	114	111	3	113
9	222	210	12	216
10	52	45	7	49
11	68	61	7	65
12	137	148	-11	143
13	117	111	6	114
14	98	90	8	94
15	45	47	-2	46
16	94	106	-12	100
17	264	315	-51	290
18	33	29	4	31
平均值	127.56	127.94	-0.39	127.75
SD			15.86	

2.5.2 Bland Altman 分析数据的一致性。 试验计算了碱解扩散法与碱解蒸馏法测量配对数据的差值和差值的标准差, 应用 Bland Altman 分析评价了 2 种测量方法的一致性。用表 6 中 2 种方法结果数据差值的平均值为 -0.39 mg/kg , 标准偏差 $SD = 15.86 \text{ mg/kg}$, 95% 一致性界限为 $(-0.39 - 1.96$

$\times 15.86, -0.39 + 1.96 \times 15.86)$, 即 $(-31.48, 30.70)$ 。通过 Excel 图表功能, 形成 Bland-Altman 图。从图 2 可以看出, 18 个点在 d 线上下分布均衡, 落在一致性界限外的点有 1 个, 占 5.6%, 可以认为 2 组测量数据具有较好的一致性, 也就是说碱解蒸馏法具有较好的可替代性。

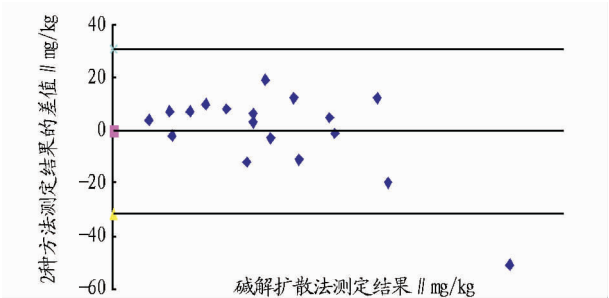


图 2 2 种测量方法的 Bland-Altman 图

3 结论与讨论

(1) 利用全自动定氮仪测定植烟土壤中水解性氮具有操作简便、快速、稳定性好、不易受污染的特点。与常规碱解蒸馏法相比, 两者测定值相关性明显且差异性不显著, 可满足规定精度的要求, 建议采用蒸馏法代替扩散法分析土壤的水解氮量更能满足大批量土样分析的需求。

(2) 氢氧化钠浓度对土壤水解性氮含量的测定有较大的影响, 建议采用 $4 \sim 5 \text{ mol/L}$ 浓度氢氧化钠, 既能保证易水解蛋白质水解完全, 又能控制难水解蛋白质进行水解, 确保结果的准确性。

(3) 浓度 2% 硼酸溶液能有效保证不同浓度水解性氮测定结果的准确性。

(4) 为了确保蒸馏法的顺畅进行, 务必加入分析纯液体石蜡。采取蒸馏法测定水解性氮含量的反应剧烈。石蜡可以防止发泡, 防止管路阻塞, 并能有效抑制杂质的产生。

参考文献

[1] 柴家荣, 戴福斌, 李天飞, 等. 氮素营养及磷钾比对白肋烟产质量影响的研究[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(1): 20-25.
[2] 郭培国, 陈建军, 郑燕玲, 等. 不同施氮水平条件下烤烟对氮素的利用研究[J]. 热带亚热带土壤科学, 1996, 5(3): 145-148.
[3] 陈伟, 唐远驹. 烤烟烟碱含量与土壤养分的关联分析[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(5): 1-5.
[4] 晁逢春. 氮对烤烟生长及烟叶品质的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
[5] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
[6] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
[7] 郭彬, 张黎明, 王华, 等. 两种测定土壤水解性氮的方法比较[J]. 热带农业科学, 2007, 27(2): 40-43.
[8] 童永全, 邓小华. 烟碱含量与烟叶中其他化学成分、土壤碱解氮和施氮量的相关性分析[J]. 湖南农业科学, 2012(21): 103-105.
[9] 倪霞, 查宏波, 黄麟, 等. 不同氮素形态烤烟专用基肥与追肥配合施用对不同品种烟叶产质量的影响[J]. 华北农学报, 2011(S2): 90-93.
[10] 杨美仙, 戴勋, 王毅, 等. 有机无机氮配比对烤烟生长及产质量的影响[J]. 西南农业学报, 2012(3): 831-833.