

全波长扫描式多功能读数仪-分光光度法 测定土壤中无机氮

宋书会 王汝健 辛宇 张金尧 汪洪*

(中国科学院农业资源与农业区划研究所,国家化肥质量监督检验中心(北京),
农业农村部农产品质量安全肥料源性因子风险评估实验室(北京),北京 100081)

摘要 快速准确测定土壤中铵态氮、硝态氮含量对监测土壤肥力水平和生态环境,指导作物氮肥施用非常重要。选择30份土样,利用全波长扫描式多功能读数仪(酶标仪)结合靛酚蓝分光光度法、硫酸肼还原法测定土壤中铵态氮和硝态氮含量,探讨利用酶标仪测定土壤无机氮含量的可行性。结果显示,利用酶标仪测定土壤铵态氮、硝态氮含量与连续流动分析仪测定结果之间无明显差异,彼此间呈显著线性相关。铵态氮回归直线方程为 $Y(\text{连续流动分析仪}-\text{NH}_4^+-\text{N})=0.9976X(\text{酶标仪}-\text{NH}_4^+-\text{N})-0.0123$,相关系数 $R=0.9619(n=30, P<0.01)$;硝态氮回归方程为 $Y(\text{连续流动分析仪}-\text{NO}_3^--\text{N})=0.9593X(\text{酶标仪}-\text{NO}_3^--\text{N})+0.0219$,相关系数 $R=0.9640(n=30, P<0.01)$ 。酶标仪测定铵态氮回收率在96.2%~108%,相对标准偏差在10%以内;硝态氮测定回收率为94.9%~110%,且相对标准偏差在5%以内,酶标仪测定土壤铵态氮和硝态氮方法检出限分别为0.068 mg/L和0.028 mg/L。酶标仪测定土壤无机氮速度快,精密度、准确度较高,消耗试剂少,可用于大批量土壤浸提液中铵态氮和硝态氮含量的快速分析。

关键词 铵态氮;硝态氮;酶标仪;土壤

中图分类号:O657.32;TH744.12

文献标志码:A

文章编号:2095-1035(2019)02-0035-07

Rapid Determination of Inorganic Nitrogen in Soil by Spectrophotometry with a Microplate Reader

SONG Shuhui, WANG Rujian, XIN Yu, ZHANG Jinyao, WANG Hong*

(Institute of Agriculture Resources and Regional Planning, China National Center for Quality Supervision and Test of
Chemical Fertilizers(Beijing), Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agricultural
Products from Fertilizer Sources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs (Beijing), Beijing 100081, China)

Abstract It is important to quickly and accurately determine the ammonium and nitrate content in the soil

收稿日期:2018-11-14

修回日期:2018-12-30

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFD0200108);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610132018034、Y2018PT38和2060302-03-720-69)

作者简介:宋书会,女,博士研究生,主要从事植物营养生物学研究。E-mail:songshuhui89@126.com

* **通信作者**:汪洪,男,研究员,主要从事植物微量元素营养、土壤农化测试技术研究。E-mail:wanghong01@caas.cn

本文引用格式:宋书会,王汝健,辛宇,等.全波长扫描式多功能读数仪-分光光度法测定土壤中无机氮[J].中国无机分析化学,2019,9(2):35-41.

SONG Shuhui, WANG Rujian, XIN Yu, et al. Rapid Determination of Inorganic Nitrogen in Soil by Spectrophotometry with a Microplate Reader[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2019, 9(2): 35-41.

for assessing soil fertility and ecological environment and for directing fertilizer recommendation. In this paper, the contents of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ in soil were determined through a microplate reader with indophenol-blue spectrophotometry and barium sulfate reduction method, respectively. We selected 30 soil samples for determination and compared with that of AA3 in order to establish method for soil inorganic nitrogen determination. The results of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ determined by the microplate reader and the continuous flow analyzer were compared. Regression equation for $\text{NH}_4^+\text{-N}$ was established as $Y(\text{Continuous flow analyzer-}\text{NH}_4^+\text{-N})=0.997\ 6X(\text{Microplate reader-}\text{NH}_4^+\text{-N})-0.012\ 3$ with correlation coefficient $R=0.961\ 9(n=30, P<0.01)$. Regression equation for $\text{NO}_3^-\text{-N}$ was $Y(\text{Continuous flow analyzer-}\text{NO}_3^-\text{-N})=0.959\ 3X(\text{Microplate reader-}\text{NO}_3^-\text{-N})+0.021\ 9$ with correlation coefficient $R=0.964\ 0(n=30, P<0.01)$. The recovery rates of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ concentrations measured by the microplate reader were 96.2%—108% and 94.9%—110%, respectively. The relative standard deviation (RSD) of proposed colorimetric method with microplate reader was less than 10% and 5% ($n=6$) for $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$, respectively. The detection limits of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ content by the microplate reader were 0.068 mg/L and 0.028 mg/L, respectively. It is suggested that microplate reader with colorimetric method can be used for rapid analysis of ammonium and nitrate nitrogen content in soil extracts with high accuracy and precision.

Keywords ammonium nitrogen; nitrate nitrogen; microplate reader; soil

前言

土壤中铵态氮和硝态氮是作物的主要氮素来源,两者通过硝化作用和反硝化作用相互转化^[1-2]。氮肥主要分为铵态氮肥和硝态氮肥,过量施用氮肥导致农田铵态氮和硝态氮含量超标,影响土壤质量,甚至流失,对周围环境和人体健康带来危害^[3-4]。

土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 测定方法主要有蒸馏和滴定法、纳氏比色法、水杨酸分光光度法^[5-7],纳氏试剂比色法原理是利用碘化汞和碘化钾的碱性溶液与氨反应生成淡红棕色胶态化合物^[8],土壤中含有大量金属离子,易与纳氏试剂反应,单纯靠酒石酸钾钠无法掩蔽而引起试样浑浊。水杨酸钠比色法和靛酚蓝比色法反应原理相似,以硝普钠作为催化剂,土壤浸提液中的 NH_4^+ 在强碱介质下与次氯酸钠和苯酚进行反应生成水溶性染料靛酚蓝或样品中 NH_4^+ 与水杨酸钠和二氯乙氰尿酸钠反应生成蓝绿色化合物,在 660 nm 波长下检测^[9]。靛酚蓝测定的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度在 0.05 mg/L 到 0.50 mg/L 范围内^[10]。

土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量的测定方法有离子选择电极法、紫外分光光度法、试纸-反射仪法、离子色谱法、戴氏合金还原法、酚二磺酸比色法、镉柱还原法、硫酸肼还原法^[11-12]。其中离子选择电极法操作简单、快速,但是当浓度比较低时,灵敏度比较差;紫外分光光度法采用 203 nm 和 230 nm 双波长分光光度法测定土壤硝态氮,方法简便,灵敏且干扰少,是近

年来环境监测中广泛采用的方法,但存在紫外区物质干扰;而离子色谱法对仪器要求比较高^[13];酚二磺酸比色法是目前最常用的方法,该方法测量范围宽,显色稳定,但该方法对反应条件要求较为严格,易受干扰,较难控制,造成测定结果准确性偏低^[11,14]。基于镉柱还原的流动注射法或连续流动分析仪的方法具有分析速度快、操作自动化等优点^[12];硫酸肼还原法的原理是在碱性条件下利用 Cu^{2+} 的催化作用、硫酸肼的还原性将 NO_3^- 还原为 NO_2^- ,然后再与对氨基苯磺酰胺和 N-(1-萘基)乙二胺二盐酸盐产生偶合反应,形成粉红色的偶氮化合物能够在 550 nm 下检测,偶氮化合物颜色深浅与硝态氮含量成正比^[15]。

全波长扫描式多功能读数仪(酶标仪)是在多孔阵列微孔板中加样,由计算机控制,设置特定波长,快速读取微孔板内样品显色后的吸光度,该仪器设备适于大批量样品分析,操作简便。用于土壤浸提液中铵态氮和硝态氮的测定,还缺少深入研究。本研究的目的是采用酶标仪结合比色法分析测定土壤样品中铵态氮和硝态氮含量。旨在建立快速、准确、灵敏的测定土壤铵态氮、硝态氮含量的方法。

1 实验部分

1.1 仪器设备

Varioskan Flash 全波长扫描式多功能读数仪(酶标仪, Thermo Scientific 公司)、AutoAnalyzer 3

连续流动分析仪(SEAL Analytical, ltd. 公司)。

1.2 试剂

1.2.1 硝态氮

显色剂:取5.00 g 磺胺溶解于300 mL 去离子水中,加入0.25 g N-(1-萘基)乙二胺二盐酸盐($C_{10}H_7NH_2CHCH_2NH_2 \cdot 2HCl$, NEDD),并混合均匀,加入50 mL 磷酸,稀释定容至500 mL,储存于棕色瓶中。

硫酸铜溶液:称取0.10 g 五水合硫酸铜溶于60 mL 去离子水中,搅拌溶解后,转移定容至100 mL,摇匀。

硫酸锌溶液:称取1.00 g 七水合硫酸锌溶于60 mL 去离子水中,搅拌溶解后,转移定容至100 mL,摇匀。

硫酸肼溶液(3.0 g/L):称取0.6 g 硫酸肼($N_2H_4 \cdot H_2SO_4$)完全溶解于120 mL 去离子水中,加入2.8 mL 硫酸铜溶液和2.0 mL 硫酸锌溶液,去离子水定容至200 mL,摇匀。

氢氧化钠溶液:称取16.0 g 氢氧化钠,溶解于400 mL 水中,混匀。

缓冲溶液:量取6.0 mL 磷酸于400 mL 去离子水中,加入8.00 g 十水二磷酸钠搅拌溶解,用去离子水定容至2 000 mL,混合均匀。

硝酸钾储备溶液(100 mg/L):称取0.100 0 g 硝酸钾溶于600 mL 中,去离子水定容至1 000 mL,混匀。

1.2.2 铵态氮

二氯乙氰尿酸钠溶液(连续流动分析仪):称取4.00 g 氢氧化钠,0.60 g 二氯乙氰尿酸钠($C_3Cl_2N_3NaO_3$, DIC)试剂溶入约120 mL 去离子水中,定容至200 mL,混匀。

水杨酸钠溶液:称取8.00 g 水杨酸钠溶入约120 mL 去离子水中,加入0.20 g 硝普钠,定容到200 mL,混匀。

缓冲溶液:称取10.0 g 氢氧化钠,7.06 g 七水合磷酸氢二钠,31.8 g 十二水合磷酸钠溶于约600 mL 去离子水中,加入10 mL 次氯酸钠,混合均匀,去离子水定容至1 000 mL,混匀。

苯酚溶液(酶标仪):10.0 g 苯酚溶解于约600 mL 去离子水中,加入0.10 g 硝普钠,搅拌溶解后定容至1 000 mL,混合均匀。

缓冲溶液:称取40 g 柠檬酸钠溶解于600 mL 水中,定容至1 000 mL,混匀。

氯化铵储备溶液(100 mg/L):称取0.100 0 g

氯化铵溶于约600 mL 去离子水中,搅拌溶解后定容至1 000 mL,混合均匀。

氯化钾浸提液:称取74.55 g 氯化钾溶于800 mL 去离子水中,搅拌溶解,定容至1 000 mL,混匀。

实验中配制试剂时,可根据实际样品量调整试剂配制量,如未特殊说明,所用试剂均为分析纯。

1.2.3 标准溶液的配制

铵态氮标准溶液:分别量取0、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mL 氯化铵储备溶液,用水定容至50.0 mL,即浓度为0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mg/L的铵态氮标准溶液。

硝态氮标准溶液:分别量取0、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 硝酸钾储备溶液,用水定容至50.0 mL,即浓度为0、2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 mg/L的硝态氮标准溶液。

1.3 实验设计

1.3.1 实验

分别称取10.0 g 供试土壤于500 mL 具螺旋盖聚乙烯瓶中,加入100 mL 氯化钾浸提液,200 r/min 室温下震荡1 h,过滤收集滤液。

1.3.2 平行

取6份土壤样品,做与实验组相同的浸提处理,每份土壤做4组平行。通过酶标仪对平行组样品测定,计算标准偏差,分析酶标仪测定铵态氮、硝态氮含量的精密度。

1.3.3 测定

使用AA3连续流动分析仪测定实验组浸提液中铵态氮、硝态氮浓度。

酶标仪测定铵态氮含量:取待测液100 μ L 加入50 μ L 缓冲液和50 μ L 苯酚溶液,避光显色反应1 h后,在625 nm 波长下测量吸光度。

酶标仪测定硝态氮含量:取待测液40 μ L 加入40 μ L 氢氧化钠溶液和40 μ L 硫酸肼溶液,封口膜封紧酶标板,反应20 min后,加入80 μ L 缓冲液和40 μ L 显色剂在550 nm 波长下测定吸光度。

标准曲线测定:分别按照上述试剂加入量用酶标仪测定铵态氮系列标准溶液和硝态氮系列标准溶液的吸光度。

铵态氮加标回收测定:取待测液(6组)50 μ L 三份,依次加入50 μ L 0.20、0.40、0.60 mg/L 的铵态氮标准溶液,用酶标仪测定吸光度。

硝态氮加标回收测定:取待测液(6组)20 μ L 三份,依次加入20 μ L 2.00、4.00、6.00 mg/L 的硝态氮标准溶液,测定吸光度。计算加标回收率,分析酶

标仪测定铵态氮、硝态氮的准确度。

检出限实验:根据 12 份空白组测定结果,3 倍空白标准偏差^[16]作为检出限估计值,分析酶标仪测定铵态氮、硝态氮检出限。

2 结果与讨论

2.1 酶标仪法测定的铵态氮和硝态氮标准工作曲线

酶标仪测得 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 系列标准溶液的吸光度,与标准 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 溶液浓度之间进行线性回归,制作标准曲线, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 标准曲线方程为 $Y(\text{吸光度})=0.351\ 6X(\text{NH}_4^+\text{-N 浓度})+0.006\ 9$, $R^2=0.997\ 3$ 。 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 标准曲线方程为 $Y(\text{吸光度})=0.077\ 8X(\text{NO}_3^-\text{-N 浓度})-0.008\ 7$, $R^2=0.995\ 0$,如图 1 和图 2 所示。

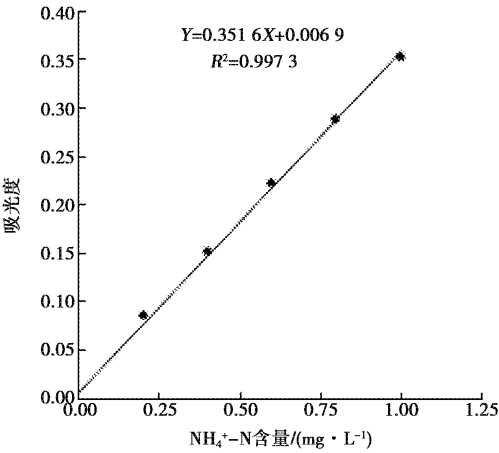


图 1 酶标仪法测定铵态氮标准工作曲线
Figure 1 Standard curve of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ determined by the proposed colorimetric method with a microplate reader.

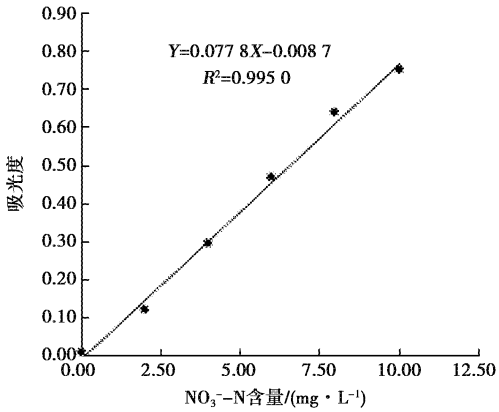


图 2 酶标仪法测定硝态氮标准工作曲线
Figure 2 Standard curve of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ determined by the proposed colorimetric method with a microplate reader.

2.2 酶标仪法测定铵态氮和硝态氮的方法检出限

利用 12 个空白 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 测定结果计算标准偏差,3 倍空白标准偏差^[16]作为检出限估计值。计算结果表明,酶标仪测定空白组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的标准偏差分别为 2.3% 和 0.94%,离散程度较低,数据较为稳定,酶标仪法测定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的检出限为 0.068 mg/L, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的检出限为 0.028 mg/L。

2.3 酶标仪测定硝态氮过程中还原剂硫酸肼浓度的确定

图 3 给出了采用 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 标准系列溶液 0、2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 mg/L,通过改变硫酸肼的浓度确定最优还原剂的用量。结果显示,6 g/L 硫酸肼浓度,线性回归方程为 $Y=0.073\ 2X-0.050\ 1$,相关系数 $R=0.991$,吸光度值偏低,特别是在低浓度时,存在硫酸肼用量过高导致低浓度的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 过度还原为氮气溢出,测定结果不准确^[15]。4 g/L 硫酸肼浓度回归方程为 $Y=0.076\ 6X-0.010\ 3$,相关系数 $R=0.994$,与 3 g/L 硫酸肼浓度加入量吸光度值较为接近,但 3 g/L 硫酸肼浓度回归方程的相关系数 R 更高,为 0.998,因此,实验中酶标仪测定硝态氮所采用硫酸肼最终配制浓度为 3 g/L。

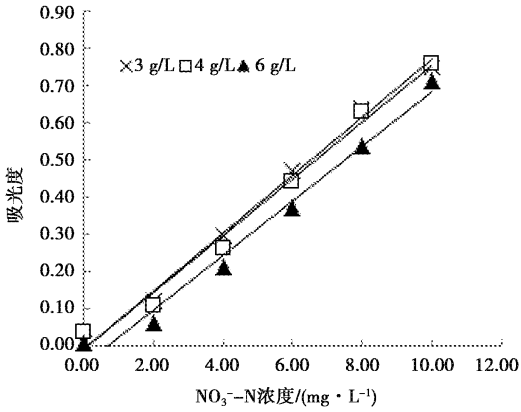


图 3 不同硫酸肼浓度下 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 标准工作曲线
Figure 3 Standard curve of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ measurement with different concentrations of hydrazine sulfate.

2.4 精密度实验

根据实验方法中精密度实验设计,用酶标仪测出相应浸提液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度,计算相对标准偏差(表 1、表 2)。结果表明:酶标仪测得 6 份土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 相对标准偏差在 1.6%~6.1%; $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 相对标准偏差在 1.7%~4.5%,均小于 5%。

表 1 酶标仪测定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 相对标准偏差

Table 1 Relative standard deviation (RSD) of the proposed colorimetric method with a microplate reader for measuring $\text{NH}_4^+\text{-N}$

样品 编号	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)				平均值/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/ %
1	0.786	0.737	0.718	0.804	0.762	5.3
2	0.778	0.723	0.774	0.692	0.742	5.6
3	0.745	0.742	0.735	0.795	0.754	3.7
4	0.643	0.688	0.632	0.625	0.647	4.3
5	0.665	0.675	0.685	0.662	0.672	1.6
6	0.598	0.673	0.609	0.592	0.618	6.1

表 2 酶标仪测定 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 相对标准偏差

Table 2 Relative standard deviation (RSD) of the proposed colorimetric method with a microplate reader for measuring $\text{NO}_3^-\text{-N}$

样品 编号	$\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)				平均值/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/ %
1	3.199	3.107	3.157	3.235	3.175	1.7
2	1.716	1.624	1.757	1.782	1.720	4.0
3	1.772	1.754	1.642	1.650	1.704	4.0
4	1.705	1.765	1.612	1.782	1.716	4.5
5	2.609	2.776	2.774	2.722	2.720	2.9
6	1.714	1.758	1.777	1.637	1.721	3.6

2.5 酶标仪与连续流动分析仪测定结果比较

如图 4、5 所示,酶标仪对 30 份土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的测定范围分别为 0.045~0.323 mg/L、0.479~4.739 mg/L,流动分析仪相对应测定范围分别为 0.027~0.326 mg/L、0.554~4.765 mg/L。

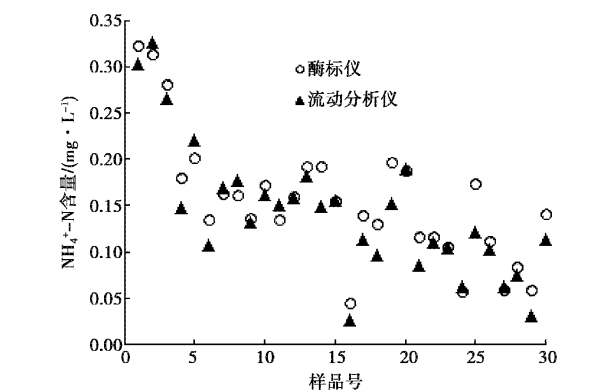


图 4 连续流动分析仪和酶标仪对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量的测定结果

Figure 4 Results of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in soil extracts determined by the continuous flow analyzer and the proposed colorimetric method with a microplate reader.

将连续流动分析仪和酶标仪的数据进行对比,计算其相关性,如图 6、7 所示。得到回归直线方程为 Y (连续流动分析仪- $\text{NH}_4^+\text{-N}$) = 0.997 6 X (酶标仪- $\text{NH}_4^+\text{-N}$) - 0.012 3, 相关系数 $R = 0.9619$ ($n = 30$, $P < 0.01$), Y (连续流动分析仪- $\text{NO}_3^-\text{-N}$) = 0.959 3

X (酶标仪- $\text{NO}_3^-\text{-N}$) + 0.021 9, 相关系数 $R = 0.964 0$ ($n = 30$, $P < 0.01$), $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 酶标仪和流动分析仪测定结果回归方程直线斜率分别为 0.997 6、0.959 3, 均接近于 1, 两种测定方法获得的测定结果间存在极显著的相关性。

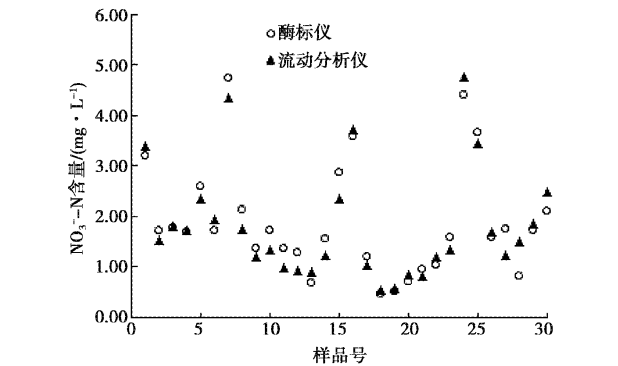


图 5 连续流动分析仪和酶标仪对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量的测定结果

Figure 5 Results of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ in soil extracts determined by the continuous flow analyzer and the proposed colorimetric method with a microplate reader.

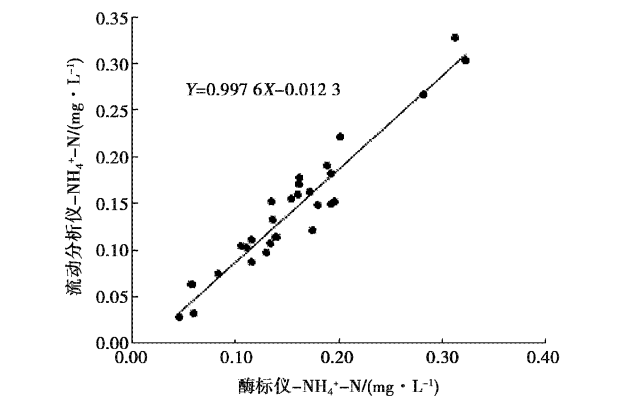


图 6 连续流动分析仪与酶标仪测定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 结果相关分析

Figure 6 Relationship between $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentrations in soil extracts determined by the continuous flow analyzer and the proposed colorimetric method with microplate reader.

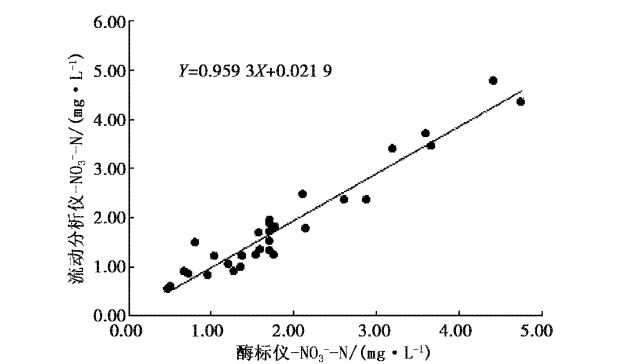


图 7 连续流动分析仪与酶标仪测定 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 结果相关分析

Figure 7 Relationship between $\text{NO}_3^-\text{-N}$ concentrations in soil extracts determined by the continuous flow analyzer and the proposed colorimetric method with microplate reader.

2.6 酶标仪法测定铵态氮和硝态氮的加标回收率

酶标仪测定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的加标回收率如

表 3 酶标仪法测定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 加标回收率

Table 3 Recovery rate of standard addition for microplate reader- $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$								
序号	基础值/ μg		添加量/ μg		测得量/ μg		回收率/%	
	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	$\text{NO}_3^-\text{-N}$	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	$\text{NO}_3^-\text{-N}$	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	$\text{NO}_3^-\text{-N}$	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	$\text{NO}_3^-\text{-N}$
1	0.016	0.064	0.01	0.04	0.028	0.103	106	98.6
			0.02	0.08	0.036	0.137	100	95.3
			0.03	0.12	0.046	0.201	100	109
2	0.016	0.034	0.01	0.04	0.025	0.072	96.3	96.7
			0.02	0.08	0.037	0.121	103	106
			0.03	0.12	0.044	0.159	96.9	103
3	0.014	0.035	0.01	0.04	0.026	0.072	108	95.6
			0.02	0.08	0.033	0.116	97.5	101
			0.03	0.12	0.047	0.148	106	94.9
4	0.009	0.034	0.01	0.04	0.019	0.082	100	110
			0.02	0.08	0.031	0.119	108	104
			0.03	0.12	0.039	0.153	100	99.4
5	0.01	0.052	0.01	0.04	0.021	0.098	104	107
			0.02	0.08	0.03	0.131	101	99.3
			0.03	0.12	0.039	0.179	98.4	104
6	0.007	0.034	0.01	0.04	0.016	0.079	96.2	106
			0.02	0.08	0.026	0.112	97.6	97.7
			0.03	0.12	0.037	0.157	101	102

2.7 两种仪器使用的比较

本研究所用连续流动分析仪由设定好的程序控制进样,可以避免带来人为的误差,省力,但需手动加液,按照 7 h/d 测定工作时间来看,每天大约可以测定 300 样次^[17],其中不包括仪器调试和试剂配制时间。酶标仪可直接读出吸光度,酶标仪测量速度快,按照 7 h/d 工作时间计算,大约可以测定 500~600 样次,仪器调试操作简单、加液时间较短,且酶标仪测试所需试剂用量较少,可以有效地减少不必要的浪费。酶标仪在进行吸光度测定时可选择适当增加重复数量,避免出现使用连续流动分析仪时因基线不稳所产生的误差问题,但连续流动分析仪加完样品后可自动进样减少了人为操作所带来的误差,而且连续流动分析仪测定可以直接将吸光度转化为浓度,节省了人力计算^[18-19]。因此,两种仪器测定各有优缺点,采用酶标仪进行土壤中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 测定结果准确,速度较快,适用于大批量样品的快速分析。

3 结论

酶标仪测定土壤中的铵态氮、硝态氮含量相对标准偏差均在 10% 以下,且该方法测定铵态氮、硝态氮回收率分别在 96.2%~108.0% 和 94.9%~

表 3 所示。结果显示:酶标仪对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的加标回收率在 96.2%~108%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的加标回收率在 94.9%~110%。

110.0%之间;与连续流动分析法测定结果之间没有明显差异,相关性较高。鉴于酶标仪消耗试剂少,分析速度快的优点,可适于大批量土壤中无机氮的快速分析测定。

参考文献

[1] JIA J, BAI J H, GAO H F, et al. In situ soil net nitrogen mineralization in coastal salt marshes (Suaeda salsa) with different flooding periods in a Chinese estuary[J]. *Ecological Indicators*, 2017, 73:559-565.

[2] 李永梅,杜彩琼,林春苗,等. 铵态氮肥施入土壤中的转化[J]. 云南农业大学学报(*Journal of Yunnan Agricultural University*), 2003, 18(1):26-29.

[3] 胡晓霞,丁洪,张玉树,等. 菜地氮素循环及其环境效应研究进展[J]. 中国农学通报(*Chinese Agricultural Science Bulletin*), 2010, 26(10):287-294.

[4] LIU Y N, LI Y C, PENG Z P, et al. Effects of different nitrogen fertilizer management practices on wheat yields and N_2O emissions from wheat fields in North China[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015, 14 (6): 1184-1191.

[5] 环境保护部. 水质 氨氮的测定 蒸馏-中和滴定法: HJ 537—2009[S]. 北京:中国环境科学出版社,2009.

[6] 环境保护部. 水质 氨氮的测定 纳氏试剂分光光度法:

- HJ 535—2009[S]. 北京:中国环境科学出版社,2009.
- [7]环境保护部. 水质 氨氮的测定 水杨酸分光光度法: HJ 536—2009 [S]. 北京:中国环境科学出版社,2009.
- [8]苏伟波,杨张青. 2 种纳氏比色法检测土壤铵态氮的对比[J]. 中国农学通报 (*Chinese Agricultural Science Bulletin*), 2015, 31(15): 211-214.
- [9]环境保护部. 水质 氨氮的测定 连续流动-水杨酸分光光度法: HJ 665—2013 [S]. 北京:中国环境科学出版社,2013.
- [10]鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2008.
- [11]李颖. 酚二磺酸分光光度法测定硝态氮影响因素研究[J]. 广东化工 (*Guangdong Chemical Industry*), 2015, 42(7): 176-178.
- [12]陈岩,孟晓宏,田晓军. 土壤硝态氮三种测定方法介绍与比较 [J]. 内蒙古水利 (*Inner Mongolia Water Conservancy*), 2011(5): 164-166.
- [13]ROZAN T F, LUTHER G W. An anion chromatography / ultraviolet detection method to determine nitrite, nitrate, and sulfide concentrations in saline (pore) waters [J]. *Marine Chemistry*, 2002, 77: 1-6.
- [14]冯江. 酚二磺酸光度法和紫外分光光度法分析水中硝酸盐氮的比对[J]. 环境科学导刊 (*Environmental Science Guide*), 2007, 26(B06): 97-99.
- [15]刘建伟,陈敏,王永霞. 硫酸肼还原法测定水中硝酸盐氮[J]. 中国卫生工程学 (*Chinese Journal of Public Health Engineering*), 2002, 1(3): 175-176.
- [16]卫生部. 食品卫生检验方法, 理化部分 总则: GB/T5009. 1—2003[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [17]温云杰,李桂花,黄金莉,等. 连续流动分析仪与自动凯氏定氮仪测定小麦秸秆全氮含量之比较[J]. 中国土壤与肥料 (*Soil and Fertilizer Sciences*), 2015 (6): 146-151.
- [18]叶祥盛,赵竹青. 流动注射法与国标法测定土壤硝态氮含量的比较[J]. 湖北农业科学 (*Hubei Agricultural Sciences*), 2011, 50(4): 698-699, 707.
- [19]武娟,章明洪. 用 AA3 型连续流动分析仪测定复混肥料中氨态氮的方法研究 [J]. 化肥工业 (*Chemical Fertilizer Industry*), 2008, 35(3): 27-31.