

AA3型连续流动分析仪测定土壤和植物全氮的方法研究^{*}

张英利, 许安民, 尚浩博, 马爱生

(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 研究了用AA3型连续流动分析仪测定土壤和植物全氮的方法。结果表明, 根据待测溶液中硫酸浓度调节缓冲溶液中NaOH的量, 保持反应pH在适宜范围, 利用连续流动分析仪能够准确地测定土壤和植物中的全氮含量, 与蒸馏滴定法的测定结果相比无显著差异, 标准曲线相关系数达0.999以上, 平均回收率为97.8%~102.3%, 土壤和植物待测液中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量的检出限分别为0.033 7和0.016 5 mg/L。

[关键词] 连续流动分析仪(CFA); 植物全氮; 土壤全氮; 测定方法

[中图分类号] S132

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)10-0128-05

开氏定氮法是丹麦人开道尔(Kjeldahl J)于1883年研究蛋白质时提出来的, 主要原理是用浓硫酸消煮, 借助催化剂加速有机质的分解, 使有机氮转化为无机态的铵态氮, 最后用标准酸滴定蒸馏出的氨^[1]。100多年来, 人们对该方法做了许多改进, 但多集中在两个方面: 一是用更有效的催化剂缩短消化时间; 二是改进氨的蒸馏和测定方法, 以提高测定效率。目前, 测定消解液中铵态氮的方法有蒸馏滴定法、扩散法和比色法等^[1], 其中以蒸馏滴定法最为常用。此法虽属经典方法, 但消耗人力、物力较多, 测定时间长, 即使采用自动定氮仪, 蒸馏1个样品也需3~5 min, 而且蒸馏废液中大量的高浓度碱处理不当还会引起环境污染。

近年来, 新型连续流动分析仪(Continuous Flow Analytical System, CFA)已逐渐进入分析实验室, 这种分析方法在分析化学领域内是一场革命, 其将复杂的手工操作简化成仪器的自动化检测, 可以连续测试批量样品, 不仅分析速度快, 节省人力、物力, 而且准确度高, 对环境污染小。以全氮为例, 测定消解液中的氮, 进样速度为60个/h, 每100个样品消耗缓冲溶液约160 mL, 水杨酸钠、次氯酸钠的用量分别仅为23 mL, 同时自动化操作也减少了人为误差。

AA3型连续流动分析仪制造商提供的全氮的测定方法仅是针对水样, 且目前有关用该仪器测定

水样中 $\text{NO}_3^- - \text{N}$, $\text{NO}_2^- - \text{N}$, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, PO_4^{3-} 等的研究较多^[2-4], 也有流动注射仪(FIA)用于烟草全氮测定^[5]的报道, 但尚未见有关使用CFA测定土壤和植物全氮的研究。本试验用AA3型CFA对土壤和植物中的全氮进行了测定, 并与蒸馏滴定法进行了比较, 旨在最大限度地发挥仪器功能, 为科研及生产中仪器的合理利用和准确测定提供参考。

1 材料与方法

1.1 AA3型连续流动分析仪的测定原理

AA3型连续流动分析仪主要由采样器、泵、化学模块及数字比色计组成。采用空气片段连续流动分析技术, 将样品和试剂在一个连续流动的系统内均匀混合, 每个样品被均匀的气泡分割, 以降低液体的扩散度及样品之间的交叉污染^[6-7]。连接的电脑装有操作软件(AACE), 能进行自动分析的控制和计算。分析流程是标准溶液和样品通过采样器被蠕动泵吸出并流过整个系统, 同时泵还连续不断地输送各个分析方法所需的试剂, 并吸入空气将流体分割成片段, 在同样条件下(包括时间、流动速度、温度、清洗比等), 每个片段在混合圈中充分混合并发生反应生成有色化合物, 通过检测器比色, 最后将比色信号输入电脑, 软件进行数据处理并生成报告。

AA3型连续流动分析仪测定全氮的化学原理是样品(消解液)中的铵态氮与水杨酸钠和次氯酸钠

^{*} [收稿日期] 2006-02-16

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目“西北旱地作物高产优质高效栽培生理生态研究”(30230230)

[作者简介] 张英利(1956-), 女, 陕西临潼人, 高级实验师, 主要从事土壤与植物营养研究。

反应生成蓝色化合物,在660 nm 波长处测定其吸收值,以硝普纳作为催化剂。此反应要求pH 为12.8~13.1, NH_4^+ -N 测定范围为0~25 mg/L。

若要用该仪器测定土壤、植物等样品的全氮,因样品种类不同,其消解方法各异,消解液中的酸度和氮的浓度差别很大。因此,本研究不但要使待测液中氮的浓度范围适宜(0~25 mg/L),而且要将反应液的pH 调节为12.8~13.1。

1.2 材料

1.2.1 供试样品 植物样品取自于有机物料腐解试验的植物残体,土壤样品采自陕西杨凌地区的蔬菜大棚温室和农田。

1.2.2 仪器 (1)AA3型连续流动分析仪。德国

布朗-卢比公司生产,配置有MT7、MT8 2个化学模块,双通道,含AA3CE 操作软件。其原理流路图为:自动进样器→蠕动泵→分析模块→检测器→数据处理系统。图1为MT7模块全氮的分析流程示意图。图1中标明的高浓度样品和低浓度样品2根进样泵管,指当待测液含氮0~8 mg/L 时,用低浓度吸样管进样,当待测液含氮0~25 mg/L 时,用高浓度吸样管进样。高浓度吸样管吸入的样品流经透析器时,大部分将被排入废液中,只有少量样品透过透析膜进入底部液流进行显色反应,所以透析器在此起稀释作用。(2)KDY-9820 凯氏半自动定氮仪。北京思贝德机电研究所生产。

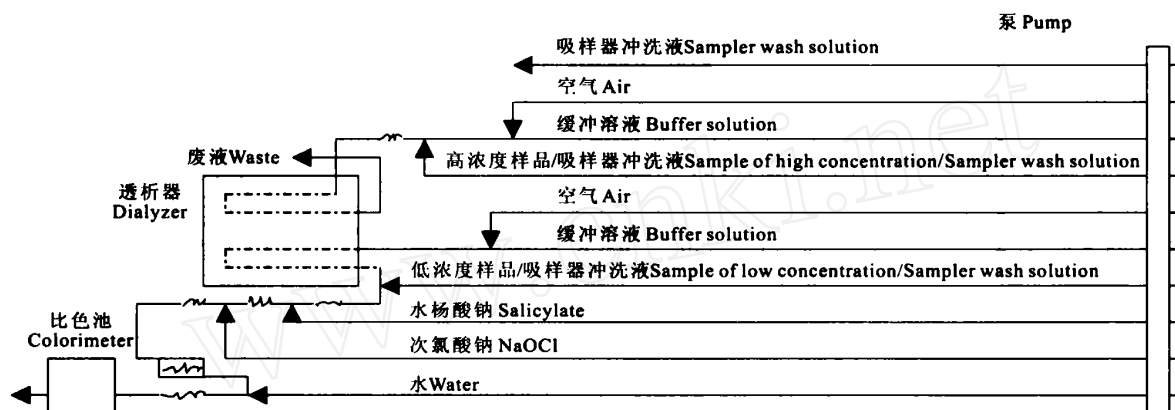


图1 MT7模块全氮分析流程示意图

Fig. 1 Flow scheme of determination of total nitrogen

1.2.3 主要试剂 (1)缓冲溶液。分别称取35.8 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 50 g 酒石酸钾钠及一定量的NaOH (根据待测液的硫酸浓度确定)溶解于600 mL 蒸馏水中,定容至1 000 mL,再加2 mL Brij-35 混匀;(2)水杨酸钠。将40 g 水杨酸钠溶于600 mL 蒸馏水中,加1 g 硝普纳定容至1 000 mL;(3)次氯酸钠。取3 mL 含有效氯52.5 g/L 的次氯酸钠溶液于60 mL 蒸馏水中,定容至100 mL;(4)混合催化剂。将 K_2SO_4 和 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 按 $m(\text{K}_2\text{SO}_4):m(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 10:1$ 的比例混合研磨,过0.20 mm 筛后充分混匀;(5)吸样器冲洗液。与待测液体积分数相同的硫酸溶液。以上所用试剂均为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 样品的消解 土壤全氮用硫酸铜-硫酸钾-硫酸消解,植物全氮用硫酸-双氧水消解^[1]。

1.3.2 管线连接 如图1所示,当用高浓度进样管进样时,则将低浓度进样管插入吸样器冲洗液中,若用低浓度吸样管进样,就将高浓度进样管插入吸样器冲洗液中,这种方式的优点是无论用那根吸样管进样,都不会改变管道中反应溶液的pH 值,但因吸入的硫酸较多,为调节反应的pH 为12.8~13.1,缓冲液中需加入的NaOH 量也较多,则测定时易产生漂移,增大“带过”(即管壁吸附)。故本试验将未吸样品的吸样管不插在吸样器冲洗液中,而是直接插入蒸馏水,这样因吸入酸总量的减少,从而使配制缓冲溶液时氢氧化钠的用量也相应减少,酸、碱量的减少最终使反应液中的溶质浓度变小,这样有利于减小漂移和“带过”,并可节省氢氧化钠和硫酸的用量。

1.3.3 连续流动分析仪测定土壤和植物全氮的方法 样品消解后,先根据所测样品的种类和称样量估算消解液含氮量(通过查阅资料或预做),进而确

定稀释倍数,再根据稀释后待测液中的硫酸浓度,确定配制缓冲溶液时的NaOH用量;吸样器冲洗液的硫酸浓度应与待测液相同。具体步骤如下:

(1)植物样品。称取植物样品0.3 g左右(精确到0.000 1 g),加8 mL浓硫酸消解后用蒸馏水定容至100 mL,硫酸体积分数为8% (消解过程的损失忽略)。按相同步骤同时做空白试验。预做后得知此溶液中氮的最大浓度约为70 mg/L,所以再将其稀释5倍制成待测液,其中硫酸的体积分数为1.6%,氮的浓度约为15 mg/L。经计算和试验,要保持反应pH为12.8~13.1,则缓冲液中的NaOH浓度应为0.38 mol/L,即每升缓冲液中加入NaOH 15.2 g;吸样器冲洗液为体积分数1.6%的硫酸。标准系列按25 mL容量瓶中加入上述定容到100 mL的空白5 mL,再分别加入0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 mL 50 mg/L的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 标准溶液,定容。用MT7模块测定,高浓度吸样管进样,低浓度吸样管插入水中,其余管子按图1所示插入相应溶液中。

(2)土壤样品。称取土壤样品0.5 g左右(精确到0.000 1 g),加入5 mL浓硫酸和1.85 g混合催化剂,在50 mL消煮管中消解后定容,同时做空白试验。再将消解液稀释2.5倍作为待测液,其中含硫酸的体积分数为4%,氮的浓度为4~5 mg/L (按土壤全氮含量0.8~1.0 g/kg估算)。标准系列按25 mL容量瓶中加入已定容到50 mL的空白10 mL,再分别加入0, 1, 2, 4, 6, 8 mL 25 mg/L的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 标准

溶液,定容。吸样器冲洗液是体积分数4%的硫酸。每升缓冲溶液中应加入NaOH 25.1 g,比仪器制造商提供的44.5 g少了19.4 g。用MT7模块,低浓度吸样管进样,高浓度进样管插入水中,其余如图1所示。因待测液浓度也在MT8模块测定范围(0~8 mg/L)内,故也可用MT8模块(通道2)测定,这样缓冲溶液消耗量是MT7模块的一半。

如果用100 mL刻度消煮管消解土壤样品,定容后可取上清液直接上机测定。此溶液含硫酸的体积分数为5%,每升缓冲溶液需加NaOH 29.3 g;空白用50 mL容量瓶定容,硫酸体积分数为10%。标准系列中按25 mL容量瓶中加入12.5 mL空白, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 标准溶液加入量同上,定容。吸样器冲洗液是体积分数5%的硫酸,其余同上。

连续流动分析仪测定全氮的参数为:进样速度60个/h,清洗比率3:1,滤光片波长660 nm,基线5%,主峰85%。

1.3.4 蒸馏滴定法 取20 mL上述待测液,用自动定氮仪蒸馏,标准酸滴定^[1]。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的测定

配制好的用于土壤和植物全氮测定的标准系列经仪器运行后,用其响应值(峰高度/%)与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度作图,其结果见图2。

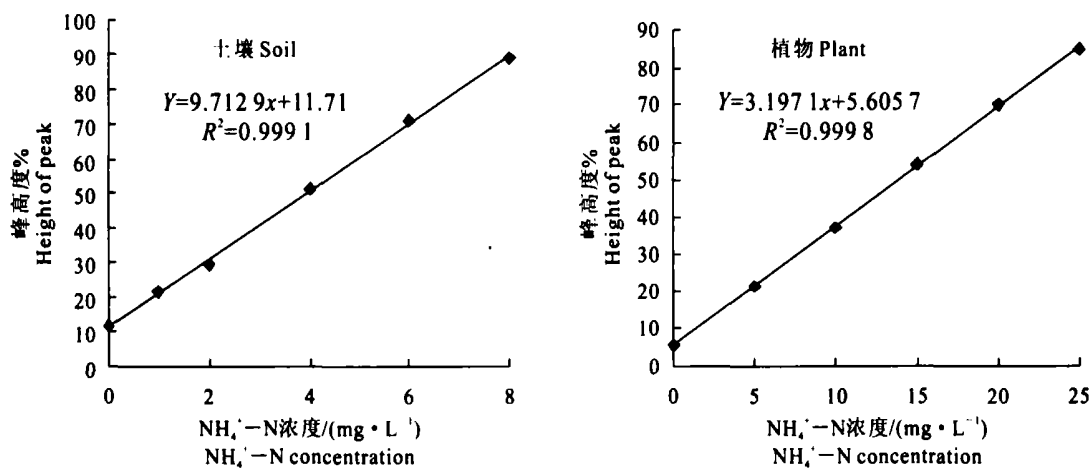


图2 土壤全氮与植物全氮标准曲线

Fig 2 Standard curves for measurement of total nitrogen in soil and plant

图2表明,在 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量分别为0~8(土壤)和0~25 mg/L(植物)时,溶液 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度与仪器响应值呈很好的线性关系,拟合的土壤样品和植物样品全氮测定的标准曲线方程分别为 $y = 9.7129x$

$+ 11.71 (r = 0.9995^{**})$ 和 $y = 3.1971x + 5.5067$ ($r = 0.9999^{**}$),式中, Y 为峰高度(%); X 为 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度(mg/L)。说明反应条件包括pH均在适宜

从图 2 还可以看出,土壤全氮标准曲线在 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度为“0”时,仪器响应值为 11.84%,较基线(5%)高出 6.84%,故使回归截距增大。这是由于基线用无色的吸样器冲洗液调节,零点标准液因加了空白而显轻微的淡蓝色,故其吸光度较吸样器冲

洗液增大所致。

2.2 准确度与精密度

用标准加入法做回收率测定,对 8 个土壤待测液在 2 日内上下午各运行 1 次做重复性试验,评价方法的准确度和精密度,其结果如表 1 和表 2 所示。

表 1 CFA 测定全氮的加标回收率 6 次平行测定结果

编号 No.	样品含氮量/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Sample concentration	加标量/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Amount added	测得总量/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Total amount recovered	平均值/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) A verage	标准差 SD	相对标准 偏差/% RSD	回收率/% Recovery
1	3.61	4.00	7.76, 7.73, 7.56, 7.80, 7.76, 7.70	7.70	0.08	1.10	102.3
2	3.20	5.00	8.06, 8.28, 8.09, 8.05, 8.32, 8.08	8.15	0.120	1.47	99.0
3	4.72	9.00	13.84, 13.60, 13.53, 13.92, 13.51, 13.49	13.65	0.185	1.35	99.2
4	11.57	5.00	16.44, 16.54, 16.52, 16.40, 16.37, 16.48	16.46	0.067	0.40	97.8

注:1,2 号为土壤样品待测液,3,4 号为植物样品待测液。
Note:No 1 and 2 are analytical solution of soil samples, No 3 and 4 are analytical solution of plant samples

表 2 CFA 测定全氮的重复性试验结果

样品号 Sample No.	不同时间测定值/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Values measured in different time interval	平均值/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) A verage	相对标准偏差/% RSD
1	8.38, 8.16, 8.52, 8.58	8.41	2.0
2	6.73, 6.84, 6.65, 6.85	6.76	1.4
3	4.14, 4.14, 4.13, 4.16	4.14	0.3
4	4.35, 4.32, 4.32, 4.37	4.34	0.6
5	8.63, 8.58, 8.74, 8.84	8.70	1.3
6	1.02, 1.04, 0.95, 0.95	0.99	4.7
7	2.06, 2.08, 1.98, 2.00	2.03	2.3
8	3.98, 4.03, 3.97, 4.01	4.00	0.7

表 1 和表 2 表明,用 CFA 测定土壤和植物全氮的回收率分别达到 99.0%~102.3% 和 97.8%~99.2%,相对标准偏差在 1.47% 以下;不同时间运行 4 次,测定结果的重复性良好,相对标准偏差小于 4.7%,表明该方法具有较高的准确度和精密度。

2.3 检出限测定

按照美国环保协会(EPA)检出限测定方法^[8-9],用标准曲线最高浓度值 2% 的样品进行 10 次重复测

定,计算检出限的大小。其计算公式为: $MLD = 2.821 \times SD$, 式中, MLD 为检出限; SD 为样品标准差。

本试验按照 1.3.3 中标准曲线的配法,分别配制浓度为 0.16 和 0.50 mg/L 的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 溶液进行土壤、植物待测液检出限的测定,各重复测定 10 次,其结果见表 3。

表 3 CFA 测定全氮的最低检出限测定

样品种类 Types of sample	测定值/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Values measured	平均值/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) A verage	标准差 SD	检出限/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Detection limit
土壤 Soil sample	0.161, 0.153, 0.170, 0.149, 0.133, 0.140, 0.161, 0.159, 0.147, 0.168	0.154	0.012 0	0.033 7
植物 Plant sample	0.562, 0.547, 0.551, 0.547, 0.549, 0.547, 0.542, 0.543, 0.546, 0.542	0.548	0.005 8	0.016 5

由表 3 可知,AA 3 型连续流动分析仪测定土壤和植物全氮时的待测液检出限分别为 0.033 7 和 0.016 5 mg/L 。表 3 还表明,土壤全氮的检出限较植物高 0.017 2 mg/L ,这主要是因为土壤样品消解时加入了催化剂,其蓝颜色使测定的灵敏度稍有降低

所致。

2.4 与经典方法的比较

分别用连续流动分析仪和蒸馏滴定法,测定土壤和植物样品消解液的含氮量,由此计算样品全氮含量,其结果见表 4。

表4 CFA 与蒸馏滴定法测定土壤和植物全氮的比较

Table 4 Total nitrogen content in soil and plant determined by CFA and distillation method

g/kg

测定方法 Method	植物样品 Plant sample								土壤样品 Soil sample							
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
CFA	19.28	20.57	13.70	13.78	17.28	22.00	24.13	8.75	0.422	0.782	0.295	1.510	1.081	0.954	1.479	2.100
蒸馏法 Distillation	19.74	20.69	12.81	13.53	17.28	20.50	23.78	8.79	0.395	0.765	0.286	1.500	1.148	0.975	1.520	2.174

注:表中数据为2次测定的平均值。

Note: The data in the table was average of two replication

对表4两种方法的测定结果进行配对法 t 检验,经计算差数平均数 $\bar{d}=0.1394$,差数标准差 $s_d=0.4588$,差数平均数标准误差 $s_{\bar{d}}=0.1147$, $t=1.2152$ 。由 t 值表得自由度 $df=15$, $t_{0.05}=2.13$, $t_{0.01}=2.95$,说明这两种方法的测定结果无显著差异。

3 小 结

(1)AA3型连续流动分析仪测定土壤和植物全氮时具有分析速度快、消耗试剂少、准确度和精密度较高等优点,尤其适用于大批量样品的分析。该法与蒸馏滴定法相比无明显差异,标准曲线 r 值可达0.999以上;平均回收率达97.8%~102.3%,相对标准

偏差在1.47%以下;重复性良好,相对标准偏差在4.7%以下;土壤和植物样品待测液中的铵态氮最低检出限分别为0.0337和0.0165 mg/L。

(2)采用MT7模块测定时,与将未吸样品的进样管放在酸性吸样器冲洗液中相比,将其直接插入蒸馏水中时系统中的酸、碱量均减少,在硫酸体积分数为4%时,每升缓冲溶液中的氢氧化钠用量由44.5 g减少到25.1 g。这样可使基线比较稳定,灵敏度漂移很小,同时降低了测试成本。

(3)测定时先将消解液含氮量稀释到仪器的测量范围之内,再根据其酸度确定缓冲溶液中氢氧化钠的用量,最终使反应pH维持在12.8~13.1。

[参考文献]

- [1] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000
- [2] 袁斌伟,施新锋,周怡.AA3自动分析仪测定地表水中的 NO_2^- -N、 NO_3^- -N+ NO_2^- -N、 NH_3 -N、 PO_4^{3-} [J].污染防治技术,2005,18(4):56-58
- [3] 张辉,梁高亮,罗利红,等.连续流动分析仪测定环境水样中的硝酸盐[J].环境检测管理技术,2003,15(1):36-37
- [4] 梁高亮,张志军,吴建勋.连续流动分析仪测定环境水样中的 COD_{Cr} [J].环境科学动态,2005(2):44-45
- [5] 沈光林,孔浩辉,张心颖.流动注射仪在烟草分析中的应用[J].理化检验——化学分册,2000,36(11):490-492
- [6] 姜密.空气隔断连续流动分析法简述[J].磷肥与复肥,1992(2):61-62
- [7] 王芳.连续流动分析仪技术与烟草分析应用[J].烟草科技/烟草化学,1998(4):27-28
- [8] 汪言满,李坤平,叶树才.连续流动分析仪测定水体中挥发酚的研究[J].工业水处理,2005,25(1):49-51
- [9] 利雪儿.连续流动分析仪测定水体中氰化物的方法研究[J].环境科学与管理,2005,30(4):107-110

Detemination study of total nitrogen in soil and plant by continuous flow analytical system

ZHANG Ying-li, XU An-min, SHANG Hao-bo, MA Ai-shang

(College of Resources and Environmental Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Detemination method of total nitrogen in soil and plant by AA3 Continuous Flow Analytical System was investigated. The results show that, the amount of sodium hydroxide in buffer solution can be adjusted according to the sulfuric acid concentration in the sample solution, and the reaction would occur in an adequate pH range. AA3 CFA can be used to assay total nitrogen in soil and plant accurately. The correlation efficiency for the standard series is as high as over 0.999, and the average recovery percentage is 97.8% - 102.3%. The N detection limit of analytical solution of soil and plant are 0.0337 and 0.0165 mg/L respectively.

Key words: Continuous Flow Analytical System (CFA); total nitrogen in plant; total nitrogen in soil; detemination method