

基于凯氏定氮法与杜马斯燃烧法 测定土壤全氮的比较研究

张薇,付昀,李季芳,孟霞,杨君

(中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部,昆明 650223)

摘要:氮循环是生物地球化学研究中最重要课题之一,全氮含量的测定是农业、生物和环境等多领域研究的常规测试项目。凯氏定氮法和杜马斯燃烧法作为常规方法用于土壤全氮含量的测定。试验对10个土壤标准样品进行测定,分别采用凯氏定氮法和杜马斯燃烧法测定其全氮含量,对2种方法的准确性、精密度和相关性进行分析。结果表明:杜马斯燃烧法和凯氏定氮法具有很好的相关性,杜马斯燃烧法精密度高于凯氏定氮法,但在样品氮含量较低时,凯氏定氮法的测定结果更准确。

关键词:凯氏定氮法;杜马斯燃烧法;土壤;比较

中图分类号:S153.1

文献标志码:A

论文编号:casb15060137

Comparative Study on Kjeldahl Method and Dumas Combustion Method for Total Nitrogen Measurement in Soil

Zhang Wei, Fu Yun, Li Jifang, Meng Xia, Yang Jun

(Kunming Division, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223)

Abstract: Nitrogen cycle is an important research topic of biogeochemical process. Measurement of the total nitrogen (TN) content is a routine experiment in the research fields of agriculture, biology and environment. Kjeldahl method (KM) and Dumas combustion method (DM) are commonly used in the measurement of TN. A comparative study on these two methods was conducted by analyzing TN in 10 standard soil samples. The accuracy, precision and correlation of these two methods were compared. The results showed that: DM and KM had good relativity, the precision of DM was better than that of KM. However, the results of KM were more correct than that of DM in low nitrogen content determination

Key words: Kjeldahl method; Dumas combustion method; soil; comparison

0 前言

氮作为一种主要的生命元素和自然组分,对生命体乃至整个生态系统起着重要的作用,是农业、生物和环境等领域分析研究的重要化学元素之一^[1]。土壤中全氮含量反映了土壤氮循环的状况,是衡量土壤肥力、评价土壤资源的一项重要指标^[2]。已有大量研究证实,即使在施用大量氮肥的情况下,作物吸收的氮素至少有50%以上来自于土壤^[3]。因此分析土壤全氮含量是评价土壤肥力,拟定合理施用氮肥的主要依据^[4],土壤中氮的分布和特性是土壤学和生态学等众多研究领

域中的重点,对其含量的测定也成为重要的常规测试项目。

测定土壤中全氮含量的经典方法是凯氏法,这个方法是由丹麦人开道尔(Kjeldahl)在1883年创立的,主要用于研究蛋白质的变化,后经推广和改进,应用于各种形态有机氮的测定。凯氏法的主要原理是土壤样品在加速剂的参与下,用浓硫酸消煮,土壤中的各种含氮有机化合物经过复杂的高温分解反应转化为氨,氨与硫酸结合生成硫酸铵,然后将消煮液碱化,蒸馏出的氨用硼酸吸收,以标准酸溶液滴定至终点,根据所用的标

基金项目:中国科学院仪器设备功能开发技术创新项目“元素分析仪在土壤植物碳氮测定中的应用与改进”(yg2012076)。

第一作者简介:张薇,女,1982年出生,云南玉溪人,工程师,硕士,主要从事土壤农化及元素分析工作。通信地址:650223 云南省昆明市学府路88号中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部, Tel:0871-65145648, E-mail: zhangwei@xtbg.ac.cn。

收稿日期:2015-06-26, **修回日期:**2015-08-27。

准酸溶液的体积计算样品的全氮含量^[5-10]。凯氏法是土壤全氮分析中的一种精确可靠的方法,但是对于含有显著数量 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的土壤样品并不适用,同时由于消化时间长,操作过程繁琐和危险以及严重的环境污染,并不利于大量样品的快速测定。

随着现代仪器分析技术的发展,元素分析仪越来越多的应用于各种样品中氮含量的测定。元素分析仪的主要原理是杜马斯燃烧法。在土壤全氮的测定中,其原理是待测样品在纯氧($\geq 99.99\%$)环境中高温燃烧,样品中所含的元素N全部转化为 NO_x 。 NO_x 再经过铜的还原和杂质(如卤素等)的去除过程,被转化为 N_2 ,经过色谱柱的分离,通过热导检测器测定出样品中氮的质量百分含量。由于元素分析仪能够在短时间内完成土壤全氮的测定且污染小,对于大量样品中N的快速测定具有广泛的应用意义。

尽管如此,目前在国内陆地生态系统氮循环等的研究中,土壤全氮的测定大多采用凯氏定氮法^[11-14],同时国内现行的测定土壤全氮含量的标准方法^[15-16]也采用凯氏定氮法,杜马斯燃烧法是否能成为土壤全氮含

量测定的标准方法,其结果与凯氏定氮法的可比性如何,是急需解决的问题。

本试验将采用凯氏定氮法与杜马斯燃烧法对不同类型土壤样品的全氮含量进行检测,比较2种方法在不同类型土壤样品全氮检测中的差异,为准确、快速地测定土壤样品中全氮含量提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤样品为国家标准物质研究中心研制的土壤有效态成分分析标准物质,共10份。分别为:辽宁棕壤(GBW07412a)、河南黄潮土(GBW07413a)、四川紫色土(GBW07414a)、湖北水稻土(GBW07415a)、江西红壤(GBW07416a)、广东水稻土(GBW07417a)、黑龙江黑土(GBW07458)、新疆灰钙土(GBW07459)、陕西黄绵土(GBW07460)和安徽潮土(GBW07461),其pH见表1。其中,酸性至中性土壤($\text{pH} \leq 7.0$)5个,碱性土壤($\text{pH} > 7.0$)5个,所有待测样品均在 65°C 干燥箱内干燥24h后置于自封袋中,分别用凯氏定氮法和杜马斯燃烧法测定样品中的全氮含量。

表1 供试土壤pH

土壤类型	pH	土壤类型	pH
辽宁棕壤	6.80±0.06	广东水稻土	6.80±0.08
河南黄潮土	8.15±0.08	黑龙江黑土	6.14±0.07
四川紫色土	8.18±0.08	新疆灰钙土	8.61±0.07
湖北水稻土	6.08±0.06	陕西黄绵土	8.50±0.07
江西红壤	4.71±0.09	安徽潮土	8.18±0.06

1.2 凯氏定氮法所用试剂

所用试剂均为分析纯。浓 H_2SO_4 ($\rho=1.84\text{ g/cm}^3$); NaOH 溶液(8 mol/L);甲基红-溴甲酚绿混合指示剂; H_3BO_3 溶液(20 g/L);混合加速剂($\text{K}_2\text{SO}_4\text{:CuSO}_4=10\text{:1}$); HCl 标准溶液(0.05 mol/L)。

分析用水均为超纯水(电导率 $18.2\text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$, 25°C)。

1.3 杜马斯燃烧法所用试剂及气体

元素分析仪用标准物质:谷氨酸[C:(40.78 ± 5.0), N:(9.52 ± 5.0)%],德国Elementar公司出品;氧气(纯度99.995%);氮气(纯度99.995%)。

1.4 仪器和设备

1.4.1 凯氏定氮法 K470型全自动蒸馏器(瑞士,布奇);K370型全自动定氮仪(瑞士,布奇);电子天平(精度为0.0001 g,梅特勒AL104型)。

1.4.2 杜马斯燃烧法 Vario MAX CN型元素分析仪(德

国Elementar公司);电子天平(精度为0.01 mg,梅特勒AB135-S型)。

1.5 操作过程

1.5.1 凯氏定氮法 称取待测样品约2 g(准确至0.0001 g)于消化管中并加入少量去离子水润湿样品,加入2 g催化剂($\text{K}_2\text{SO}_4\text{:CuSO}_4=10\text{:1}$)和浓硫酸10 mL,摇匀,在K470全自动蒸馏器 180°C 消化1~1.5 h,待消煮液和土粒全部变为灰白稍带绿色后,再继续消煮1 h。消煮完毕冷却,置于K-370全自动凯氏定氮仪上进行加碱蒸馏3 min,蒸馏出的氨通过冷凝后由硼酸直接吸收,用标准盐酸溶液滴定硼酸吸收液,记录盐酸滴定体积,计算土壤全氮含量。每个样品重复7次测定,同时,做7份空白测定,除不加土壤样品外,其余操作相同。

1.5.2 杜马斯燃烧法 采用Vario MAX CN型元素分析仪进行测定。称取土壤样品约800 mg(准确至0.01 mg)于不锈钢坩埚内,置于自动进样器上。样品

被机械臂抓起放入燃烧反应炉内,在900℃高温下燃烧分解,生成的气体随后通过干燥管被净化,除杂;燃烧产生的气体用高纯氮气(纯度≥99.995%)做载体送入还原柱内,氮氧化物被还原为N₂,并通过检测器检测计算出样品全氮含量。每个样品重复7次测定,并记录测定结果。

2 结果与分析

2.1 2种方法的精密度对比

在供试的10个标准土壤样品中,挑选全氮含量最高(广东水稻土,pH(6.80±0.08),N含量为(2.11±0.08) g/kg)、

中等(安徽潮土,pH(8.18±0.06),N含量为(1.09±0.07) g/kg)、最低(江西红壤,pH(4.71±0.09),N含量为(0.54±0.04) g/kg)的3个样品,分别使用凯氏定氮法和杜马斯燃烧法对其进行7次平行测定,其测定结果见图1。从图中可以看出,杜马斯燃烧的测定结果略高于凯氏定氮法,通过计算,得到凯氏定氮法测定全氮含量的相对标准偏差依次为1.95%、3.59%和2.07%;杜马斯燃烧法测定全氮含量的相对标准偏差分别为0.37%、0.54%和1.28%。由此可见,2种方法对于不同含量以及不同酸度范围的土壤均有较高的精密

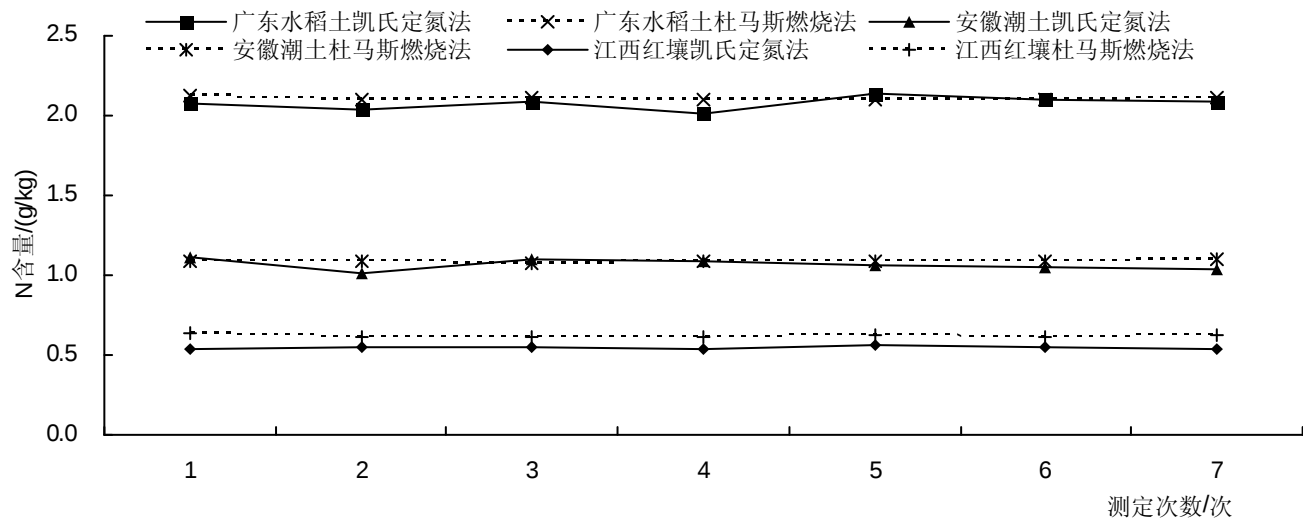


图1 2种方法测定不同土壤全氮结果的比较

度,相比之下,杜马斯燃烧法的精密度更高。

2.2 2种方法测定的全氮结果对比

2.2.1 全氮含量的对比 分别用凯氏定氮法和杜马斯燃烧法测定了10个土壤标准样品的全氮含量,每个样品重复7次测定,测定结果见表2。由表2可以看出,不同测定方法得到的土壤全氮含量具有不同程度的差别。总体来说,凯氏定氮法测定的全氮值均低于杜马斯燃烧法测定值,这种差异可能是由于凯氏定氮法所测定的全氮并不完全包括NO₃⁻-N和NO₂⁻-N,但是由于土壤样品中NO₃⁻-N和NO₂⁻-N的含量一般都比较低,对于大部分土壤全氮量的测定影响不大,故通常可以忽略不计。

对于低氮含量的土壤样品来说,凯氏定氮法测定的土壤氮含量更接近于全氮参考值,这也说明,对于不同N含量的土壤样品,选择合适的测定方法能够保证结果测定的准确性。

此外,结合表1和表2也可以看出,凯氏定氮法和杜马斯燃烧法对土壤的酸碱度均没有要求,不管是对酸性、中性还是碱性土壤来说,2种方法都可以用于土

表2 凯氏定氮法和杜马斯燃烧法测定土壤样品氮含量的结果(n=7) g/kg

土壤类型	全氮参考值	KN	DN	KN/DN
辽宁棕壤	0.63±0.02	0.67	0.78	0.852
河南黄潮土	0.77±0.03	0.78	0.85	0.915
四川紫色土	1.07±0.04	1.08	1.11	0.978
湖北水稻土	1.97±0.06	1.93	2.02	0.956
江西红壤	0.54±0.04	0.55	0.72	0.759
广东水稻土	2.11±0.08	2.08	2.11	0.985
黑龙江黑土	1.62±0.07	1.64	1.68	0.976
新疆灰钙土	0.71±0.03	0.72	0.79	0.913
陕西黄绵土	0.65±0.04	0.63	0.77	0.822
安徽潮土	1.09±0.07	1.07	1.09	0.979

注:KN指凯氏定氮法测定的氮含量,DN指杜马斯燃烧法测定的全氮含量。

壤全氮含量的测定。

2.2.2 2种分析方法结果的相关性分析 在对2种分析方法结果比较的基础上,本试验对2种检测方法的相

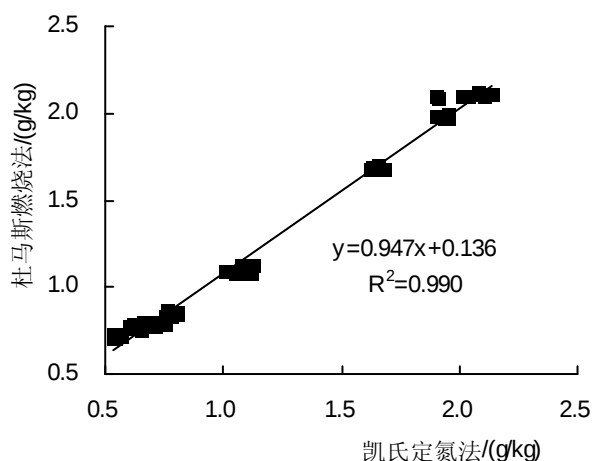


图2 土壤氮含量的杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测定值的相关关系

关性进行分析。图2显示,2种测定方法测定值之间存在显著的线性相关($r=0.995$),凯氏定氮法和杜马斯燃烧法均可以用于测定土壤全氮含量。

3 结论

杜马斯燃烧法和凯氏定氮法均能准确分析土壤样品的全氮含量,能够得到可靠的实验数据,并且具有较好的精密度。采用杜马斯燃烧法和凯氏定氮法测定土壤中全氮含量,具有线性相关性好的特点。2种分析方法的差异性主要表现在:在样品的前处理上,杜马斯燃烧法仅需要粉碎、烘干样品即可上机测定;凯氏定氮法需要消煮样品,消煮过程繁琐,容易产生人为误差,同时,所使用的酸碱对操作人员和环境的危害都比较大。在分析效率和速度上,杜马斯燃烧法能快速分析样品,约10 min/个,且能够自动进样;凯氏定氮法需要消煮样品,每20个样品约需要2 h,蒸馏及滴定约8 min/个,时间更长。在分析项目上,杜马斯燃烧法除了能够测定全氮含量外,还可以测定土壤全碳含量;凯氏定氮法只能测定全氮含量。在检测结果的准确性上,杜马斯燃烧法和凯氏定氮法均能准确测定土壤样品中的全氮含量,但凯氏定氮法对于低氮含量的样品测定效果更好。针对2种方法的差异性,建议对于硝态氮和亚硝态氮含量较低的样品,2种方法均可以采用;对于硝态氮和亚硝态氮含量较高的样品,应选用杜马斯燃烧法来检测其全氮含量,同时,大量样品采用杜马斯燃烧法测定,对于低氮含量的样品采用凯氏定氮法测定。

4 讨论

凯氏定氮法在测定土壤样品时,使用了强酸、强碱等危险试剂,同时在试验过程中逸出的酸雾等会对操作人员及环境造成污染,而且该方法的结果在很大程

度上受到检测人员的影响,存在较大的随机误差。另外,从理论上讲,凯氏定氮法测定的氮含量,主要是指铵态氮,但在实际土壤中,还包括硝态氮和亚硝态氮。因此,凯氏定氮法和杜马斯燃烧法测定结果的一致性主要由样品中存在的硝态氮和亚硝态氮的含量所决定。对于硝态氮和亚硝态氮含量较低的样品,2种方法均可以采用,且凯氏定氮法的精密度更高;对于硝态氮和亚硝态氮含量较高的样品,应选用杜马斯燃烧法来检测其全氮含量。

本试验中的杜马斯燃烧法,采用了德国Elementar的元素分析仪进行检测,检测人员仅需对样品进行称量,其余均由仪器内部完成,不会对环境造成污染,能够节省人力和时间。同时,它检测的结果包括了所有形态的氮含量,因此,测定结果一般都高于凯氏定氮法所得到的结果。但由于杜马斯燃烧法所采用的仪器比较昂贵,维护及维修成本高,因此应用范围不够广。

参考文献

- [1] Galloway J N. The global nitrogen cycle: Changes and consequences[J]. Environ Pollut, 1998, 102(1, suppl. 1): 15-24.
- [2] Buondonno A, Coppola E, Palmieria G, et al. Monitoring nitrogen forms in soil/plant systems under different fertilizer managements. A preliminary investigation[J]. Eur J Agron, 1997, 7(4): 293-300.
- [3] 鲁彩艳, 牛明芬, 陈欣, 等. 不同施肥制度培育土壤氮矿化势与供氮潜力[J]. 辽宁工程技术大学学报, 2007, 26(5): 773-775.
- [4] 鲁如坤主编. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 146.
- [5] 鲍士旦主编. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 42-44.
- [6] 南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1978: 449-450.
- [7] 李磐, 吉恒莹, 单娜娜, 等. 吉尔吉斯斯坦与新疆土壤测定方法对比分析[J]. 中国农学通报, 2014, 30(11): 286-290.
- [8] 何进, 梁运祥. 浅谈凯氏定氮法[J]. 陕西粮油科技, 1996, 21(3): 52-53.
- [9] 李志鹏, 潘根兴, 李恋卿, 等. 水稻土和湿地土壤有机碳测定的CNS元素分析法与湿消化容量法之比较[J]. 土壤, 2008, 40(4): 580-585.
- [10] 许振柱, 周广胜. 全球变化下植物的碳氮关系及其环境调节研究进展——从分子到生态系统[J]. 植物生态学报, 2007, 31(4): 738-747.
- [11] 王淑平, 周广胜, 吕育财, 等. 中国东北样带(NECT)土壤碳、氮、磷的梯度分布及其与气候因子的关系[J]. 植物生态学报, 2002, 26(5): 513-517.
- [12] 耿远波, 章申, 董云社, 等. 草原土壤的碳氮含量及其与温室气体通量的相关性[J]. 地理学报, 2001, 56(1): 44-53.
- [13] 白军红, 邓伟, 朱颜明, 等. 霍林河流域湿地土壤碳氮空间分布特征及生态效应[J]. 应用生态学报, 2003, 14(9): 1494-1498.
- [14] 薛利红, 杨林章, 范小晖. 基于碳氮代谢的水稻氮含量及碳氮比光谱估测[J]. 作物学报, 2006, 32(3): 430-435.
- [15] LY/T 1228—1999, 森林土壤全氮的测定[S]. 中华人民共和国林业行业标准.
- [16] HJ/T 717—2014, 土壤质量全氮的测定凯氏法[S]. 中华人民共和国国家环境保护标准.