

土壤碱解氮测定方法优化改革^①

侯建伟¹, 邢存芳², 杨莉琳¹

1. 铜仁学院 农林工程与规划学院/贵州省梵净山地区生物多样性保护与利用重点实验室, 贵州 铜仁 554300;
2. 铜仁学院 人事处, 贵州 铜仁 554300

摘要: 碱解扩散法是土壤中易水解态氮(潜在有效氮)测定的重要方法, 林学、土壤、农业化学和资源与环境等专业的土壤农化分析等课程教学中都在采用. 测定过程中 H_3BO_3 —指示剂溶液易污染和 NH_3 挥发损失一直是困扰学生的主要难题和引起测定误差的主要原因. 笔者结合多年实验经历总结了引起该问题的主要原因, 并通过实验器皿改造和替换优化了传统实验方法, 从而减小了测定误差, 提高了实验成功率.

关键词: 土壤; 碱解氮; 碱解扩散法; 优化改革

中图分类号: S153

文献标志码: A

文章编号: 1000-5471(2021)07-0045-05

土壤碱解氮亦称土壤有效氮^[1-3], 是铵态氮、硝态氮、氨基酸、酰胺和易水解的蛋白质氮的总和^[4-5], 包括无机的矿物态氮和部分有机质中易分解的、比较简单的有机态氮, 其含量关系着作物产量与生长情况^[6-7]. 与土壤全氮相比, 碱解氮更能反映当季或近期土壤供氮能力^[8-11], 是衡量土壤肥力的重要指标之一^[12-14], 对平衡施肥^[15-16]和有效控制农田面源污染等具有重要意义^[3]. 目前, 根据《全国第二次土壤普查暂行技术规程》规定, 土壤碱解氮的测定采用碱解扩散法, 但由于碱解扩散法操作过程中极易发生扩散皿内室污染和外室边缘漏气等现象, 测定结果重现性差^[17-18], 所以很多学生和老师都在实验中遇到困难, 如果没有多次操作和长期磨练很难达到理想效果. 以往研究中, 一些学者多将碱解扩散法改为定氮仪碱解蒸馏法^[17-18]或凯氏定氮法^[19], 从而规避碱解扩散法的不足, 而很少有学者开展碱解扩散法的优化改革研究. 本研究从实际问题出发, 在原有实验方法的基础上进行实验器皿(扩散皿)改造和替换, 进而优化碱解扩散法, 以期让操作过程更加简单易行, 同时减小实验操作误差, 提高实验成功率.

1 碱解扩散法的基本原理与步骤

1.1 实验原理

土壤碱解氮的测定原理是土壤中易水解态氮(潜在有效氮)被 1.0 mol/L NaOH 溶液碱解转化为 NH_3 , NH_3 扩散后被 H_3BO_3 吸收, 再用标准酸滴定 H_3BO_3 吸收液中的 NH_3 , 由此计算土壤中碱解氮的含量^[7].

1.2 实验步骤

- ①称取风干土样($d \leq 2 \text{ mm}$)2.00 g 置于扩散皿外室(图 1)并轻轻旋转铺平;
- ②吸取 H_3BO_3 —指示剂溶液 2 mL 置于扩散皿内室(图 1);
- ③在扩散皿外缘涂碱性胶液, 盖上毛玻璃并旋转, 使其与皿边完全黏合;
- ④轻轻向前平推开毛玻璃至扩散皿外室漏出一条狭缝, 迅速向扩散皿外室加入 1.0 mol/L NaOH 溶液

① 收稿日期: 2020-10-24

基金项目: 铜仁学院 2020 年一流本科教育专项项目(YLBK-2020023, YLBK-2020024); 贵州省教育厅创新群体重大项目(黔教合 KY 字[2016]053 号).

作者简介: 侯建伟, 博士, 教授, 主要从事退化土壤改良和教法研究.

10 mL, 立即盖严, 轻轻旋转扩散皿, 使 NaOH 溶液与土壤完全混合.

⑤用橡皮筋紧固毛玻璃, 置于 40 ± 1 °C 恒温箱中, 碱解扩散 24 ± 0.5 h.

⑥用标准 HCl 或 H_2SO_4 滴定扩散皿内室中 H_3BO_3 吸收的 NH_3 .

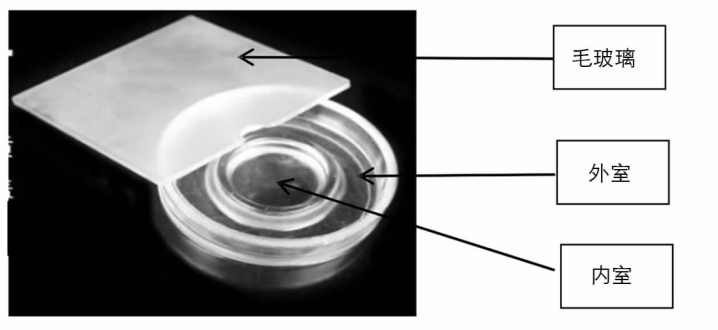


图 1 常规扩散皿

2 碱解扩散法测定土壤碱解氮的重要环节及现存问题

2.1 重要环节

碱解扩散法测定土壤碱解氮的重要环节: 一是除了严格清洗扩散皿内室和避免渐入杂质外, 还要尽量缩短 H_3BO_3 —指示剂溶液在空气中的暴露时间, 避免污染; 二是土壤样品中加入 NaOH 溶液时动作要快、要稳, 尽量减少 NH_3 挥发损失或缩短挥发时间.

2.2 现存问题

H_3BO_3 —指示剂溶液易污染. 实验室实验药品种类繁多、成分复杂, 加之同一实验室往往安排多项不同实验项目, 极易导致室内空气成分复杂, 而实验用到的 H_3BO_3 —指示剂溶液的 pH 值为 4.8, 容易受到空气环境影响. 另外, 由于学生操作手法不娴熟, 实验过程中 H_3BO_3 —指示剂溶液放入扩散皿内室后的搁置暴露时间较长, 这就增加了 H_3BO_3 —指示剂溶液在实验室环境中的污染几率. H_3BO_3 —指示剂溶液一旦污染变为蓝色即为实验失败, 会导致实验测定值偏大.

NH_3 挥发易损失. 扩散皿外室加入 1.0 mol/L NaOH 溶液时, 要求学生迅速加入并立即盖严毛玻璃. 这是因为土壤中部分易水解态氮(潜在有效氮)一旦遇到 NaOH 溶液便会立即碱解转化为 NH_3 , 若不立即盖严毛玻璃将会导致 NH_3 挥发损失, 最终引起土壤碱解氮的测定值小于实际值. 众所周知, 实验课时学生还处在学阶段, 不可能刚一接触就做到熟练操作, 这势必会拖延 NaOH 溶液加入扩散皿外室的时间和盖严毛玻璃的时间, 从而增加了 NH_3 的挥发时间或挥发机会. 另外, 吸有 NaOH 溶液的移液管(枪)要伸入毛玻璃的缺口(图 1), 将 NaOH 溶液加入到扩散皿外室, 操作时手部稍有抖动 NaOH 液滴很容易触碰并留存至毛玻璃的缺口处或扩散皿外室边缘, 碱性胶液的部分溶解会导致毛玻璃与皿边黏合不严, 引起实验误差.

3 测定方法优化

3.1 优化目标

针对碱解扩散法的现存问题及其原因进行有针对性的优化, 其优化目标总结为两个: 一是避免 H_3BO_3 —指示剂溶液污染; 二是避免 NH_3 挥发损失.

3.2 优化措施

要想达成避免 H_3BO_3 —指示剂溶液污染和避免 NH_3 挥发损失的两项优化目标, 我们针对现存问题的原因提出两点假设: ① H_3BO_3 —指示剂溶液加至扩散皿内室后不再暴露在空气中或尽量阻止其与外界空气接触; ②先盖严毛玻璃, 待 NaOH 溶液加至扩散皿外室后不再让 NH_3 有挥发散出扩散皿的机会.

为了验证这两个假设从而实现优化目标, 我们在碱解扩散法的基础上对实验器皿进行改造和替换, 进而规避其实验方法的不足. ①将常规扩散皿(图 1)改造为乳胶塞注射式扩散皿(图 2)^[20]. 即在毛玻璃与扩

散皿内、外室对应位置处打 2 个小孔, 然后用乳胶塞(老化或密封欠佳时可更换)密封. ②移液管(枪)替换为注射器. H_3BO_3 —指示剂溶液和 NaOH 溶液由原来的移液管(枪)加入改为注射器针头穿过乳胶塞推入. 这种优化可以通过改变酸或碱的加入方式而避免或减少 H_3BO_3 污染和 NH_3 挥发, 这不仅减小了实验误差, 简化了实验过程, 还提高了实验效率.

- 碱解扩散法优化后土壤碱解氮的测定步骤改为:
- ①称取风干土样($d\leq 2\text{ mm}$)2.00 g 至于扩散皿外室(图 2)并轻轻旋转铺平;
 - ②在扩散皿外缘涂碱性胶液, 盖上毛玻璃, 旋转至其与皿边完全黏合, 用橡皮筋紧固毛玻璃;
 - ③用注射器吸取 H_3BO_3 —指示剂溶液 2 mL 推至扩散皿内室(图 2);
 - ④用注射器吸取 1.0 mol/L NaOH 溶液 10 mL 推至扩散皿外室, 轻轻旋转扩散皿, 使 NaOH 溶液与土壤完全混合(图 2);
 - ⑤置于 $40\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温箱中, 碱解扩散 $24\pm 0.5\text{ h}$;
 - ⑥用标准 HCl 或 H_2SO_4 滴定扩散皿内室中 H_3BO_3 吸收的 NH_3 .

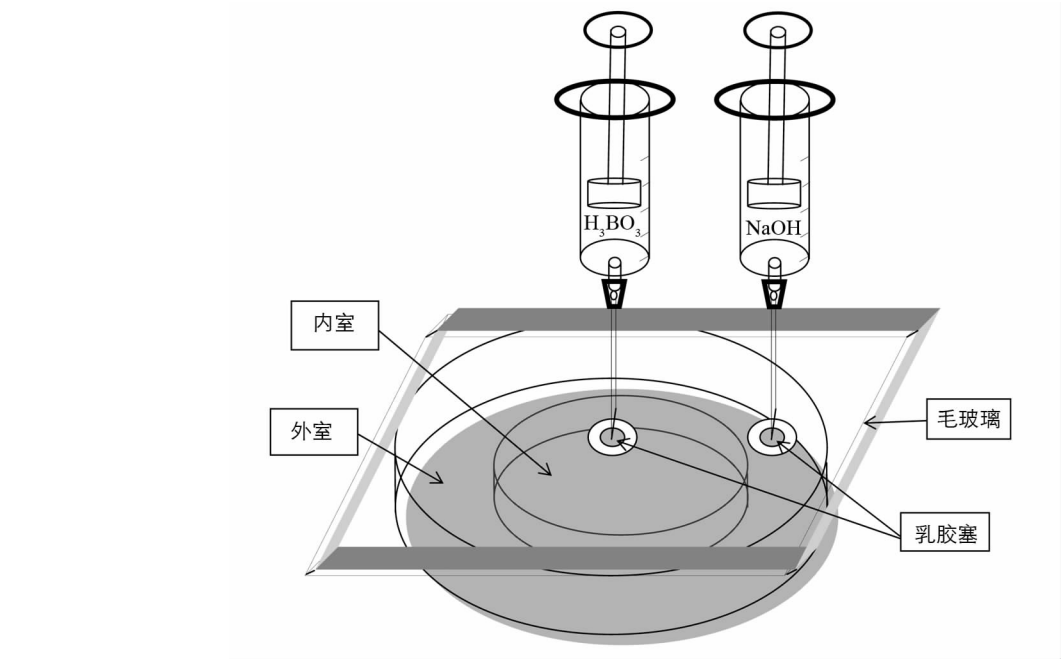


图 2 乳胶塞注射式扩散皿

3.3 效果评价

根据乳胶塞注射式扩散皿的打孔参数^[20]对常规扩散皿中的毛玻璃进行打孔加塞改造, 实验室模拟制作出乳胶塞注射式扩散皿, 酸碱的加入采用常规医用注射器. 对比分析发现土壤碱解氮测定方法优化后取得了良好的预期效果(表 1), 实现了改革目标.

优化后的测定方法是将常规扩散皿改造为乳胶塞注射式扩散皿、移液管(枪)替换为注射器, 器皿的改造和替换很容易实现, 其测定成本波动很小.

优化后的测定方法极大地提高了学生的实验兴趣和参与度, 打破了以往实验课中一半做一半看的局面; 明显降低了实验环境的负面影响, 将 H_3BO_3 —指示剂溶液污染和 NH_3 挥发损失降至最低; 此方法可操作性强, 初学者更易接受和操作, 明显提高了实验的成功率.

表 1 土壤碱解氮测定方法优化前后对比分析

项 目	碱解器皿	酸碱器皿	优化步骤	结果误差	操作要求	可操作性	污染率
优化前	常规扩散皿	移液管(枪)	先加酸碱后盖毛玻璃	小	高	强	低
优化后	乳胶塞注射式扩散皿	注射器	先盖毛玻璃后加酸碱	更小	低	更强	更低

4 优化前后对比分析

利用优化前后的碱解扩散法分别对 3 个国标土样进行土壤碱解氮的重复性测定($n=5$)，并计算相对标准偏差。结果表明，与优化前相比，优化后土壤碱解氮结果准确可靠，测定结果平均值均与国标土样含量相吻合，且重现性好，相对标准偏差 RSD 为 $1.92\sim2.45$ ，小于优化前的 $2.07\sim3.27$ 。

表 2 碱解扩散法优化前后检验精度、准确度对比分析 mg/kg

方法	土样	标准值	测定值 1	测定值 2	测定值 3	测定值 4	测定值 5	均值	$RSD/\%$
优化前	国标 1	57 ± 4	55	57	58	56	54	55.6	2.07
	国标 2	97 ± 7	98	100	95	96	95	96.8	3.27
	国标 3	165 ± 10	166	163	168	162	164	164.6	2.41
优化后	国标 1	57 ± 4	58	56	60	61	57	57.8	1.92
	国标 2	97 ± 7	99	102	101	98	96	99.0	2.45
	国标 3	165 ± 10	162	169	163	169	166	165.8	2.39

5 改革特色与创新

以碱解扩散法的现存问题为着手点，探索原因并提出合理假设，通过实验器皿改造(常规扩散皿改造为乳胶塞注射式扩散皿)和替换(移液管(枪)替换为注射器)从而优化了传统的实验方法，大大减少了 H_3BO_3 —指示剂溶液污染和 NH_3 挥发损失的概率。

使用笔者“乳胶塞注射式扩散皿”的现有专利优化了传统的实验方法，不但列出了实验步骤而且将优化前后的实验方法进行了对比分析和实验验证，使得优化后的实验方法具有了更高的可操作性、实用性和推广性。

6 结 语

碱解扩散法中有两个主要现存问题影响实验结果与实验成功率：一是 H_3BO_3 —指示剂溶液易污染；二是 NH_3 易挥发损失，这两个现存问题在测定方法优化后得以规避。

优化后的实验方法改变了原有毛玻璃的构造和酸碱加入方式，其测定结果准确可靠，较传统碱解扩散法的相对标准偏差更小。

参考文献：

[1] 刘庆平. 沼液农用对黑土土壤肥力、重金属含量和玉米产量的影响 [D]. 黑龙江：东北农业大学，2020.

[2] 罗晓涵. 不同缓释肥对大棚番茄越夏栽培效果及土壤养分的影响 [D]. 哈尔滨：东北农业大学，2020.

[3] 王顺新. 微硅粉悬浮液体地膜性能及对植被生长特性研究 [D]. 西宁：青海大学，2020.

[4] 张有新. 光伏电厂内人工种植植被下土壤肥力质量特征研究 [D]. 呼和浩特：内蒙古农业大学，2020.

[5] 徐 飞. 垦殖与恢复对三江平原沼泽湿地土壤微生物群落结构与功能多样性的影响 [D]. 哈尔滨：东北林业大学，2017.

[6] 侯建伟, 邢存芳. 林学专业“土壤农化分析”教学改革的研究与实践 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2020, 45(11): 182-188.

[7] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京：中国农业出版社，2002: 57.

[8] 刘建明, 温爱亭, 姚 颖, 等. 榛子天然林、榛子人工林及农田土壤理化性质分析研究 [J]. 森林工程, 2019, 35(6): 26-30.

[9] 惠 珊. 秸秆还田及氮肥施用对土壤性状及水稻生长的影响 [D]. 扬州：扬州大学，2019.

[10] 刘鸿雁, 黄建国. 缙云山森林群落次生演替中土壤理化性质的动态变化 [J]. 应用生态学报, 2005(11): 37-42.

[11] 余雪标, 莫晓勇, 龙 腾, 等. 不同连栽代次桉树林枯落物及其养分组成研究 [J]. 海南大学学报(自然科学版), 1999, 17(2): 140-144.

[12] 郑立平. 市政道路绿化种植土改良技术研究 [J]. 交通世界, 2021(7): 151-152.

[13] 孟祥杰, 黄 璜, 陈 灿, 等. 稻田不同种养模式对土壤肥力的影响 [J]. 湖南农业科学, 2021(2): 45-48.

[14] 周东兴, 李 欣, 宁玉翠, 等. 蚯蚓粪配施化肥对稻田土壤性状和酶活的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2021, 52(2): 25-35.

[15] 陈惠婷. 不同有机物料还田与减氮施肥对麦田碳氮水足迹及生态服务价值的影响 [D]. 新乡: 河南师范大学, 2016.

[16] 鲍艳杰. 不同耕作覆盖措施对春玉米的增产效应及环境效应的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.

[17] 魏 娜. 两种土壤碱解氮测定方法比较 [J]. 西藏农业科技, 2014, 36(1): 30-34.

[18] 王晓岚, 卡丽毕努尔, 杨文念. 土壤碱解氮测定方法比较 [J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2010, 46(1): 76-78.

[19] 莎 娜, 张三粉, 骆 洪, 等. 两种土壤碱解氮测定方法的比较 [J]. 内蒙古农业科技, 2014, 42(6): 25-26, 33.

[20] 侯建伟, 邢存芳, 卢志宏, 等. 乳胶塞注射式扩散皿: CN207516116U [P]. 2018-06-19.

Optimization Reform of Soil Available Nitrogen Determination Method

HOU Jian-wei¹, XING Cun-fang², YANG Li-lin¹

1. School of Agroforestry Engineering and Planning / Guizhou Key Laboratory of Biodiversity Conservation and Utilization in the Fanjing Mountain Region, Tongren University, Tongren Guizhou 554300, China;
2. Personnel Department, Tongren University, Tongren Guizhou 554300, China

Abstract: Alkaline diffusion method is important for the determination of easily hydrolyzed nitrogen (potentially available nitrogen) in the soil. Specialties such as soil, agricultural chemistry, resources and environment are all used in the teaching of Soil Agrochemical Analysis. The easy contamination of H₃BO₃-indicator solution and the loss of NH₃ volatilization during the measurement process had been the main problems that plague students and cause measurement errors. Based on years of experimental experience, the author summarized the main reasons for this problem, and optimized the shortcomings of traditional experimental methods through the transformation and replacement of experimental vessels, thereby reducing the measurement error and improving the success rate of the experiment.

Key words: soil; available nitrogen; alkaline diffusion method; optimization reform

责任编辑 包 颖