

土壤分析方法研究

土壤速效氮的测定方法

周鸣铮 于文涛 方樟法

(浙江农业科学院中心实验室)

土壤速效氮测定的实验室方法可分为培养法与提取法两大类。培养法或称为矿化率法,早在四十年代已有研究^[1]。至五十年代,有很多人对好气培养法进行了大量研究工作^[2,3,4,5]。在六十年代,不少人又对水稻田土壤进行淹水培养法的研究^[6,7,8,9]。

用化学试剂提取(包括蒸馏及扩散)的方法,从五十年代开始已有人提出;而直至七十年代尚在继续研究。其中主要的方法有:(1)碱性 KMnO_4 蒸馏法^[10,11];(2) MgO 或 CaO 蒸馏法^[12];(3)水提取蒸馏法^[13];(4) NaOH 扩散法^[14];(5)酸性水解法^[15];(6)碱性水解法(或 $0.5N$ NaOH 蒸馏法)^[16];(7) $0.01M$ NaHCO_3 提取全氮法^[17];(8) $0.5N$ Na_2CO_3 提取全氮法^[26];(9)沸水提取法^[18];(10)焦磷酸钠提取法及 $0.01M$ CaCl_2 提取法^[19];(11) $0.1N$ $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 提取糖分法^[20];(12)沸水提取糖分法及热水提取有机氮法^[21];(13) $0.01M$ CaCl_2 高温加压提取全氮法等^[22,23,24]。

这些方法在浙江省的具体条件下是否可用?须经过较长期的相关性测定始可提出意见。本课题的目的即在前人工作的基础上,针对浙江省的水稻田土壤,以水稻为指示作物,进行试验研究,以求能提出一种适用于浙江省水稻田土壤的速效氮化学测定方法,供生产与科研工作应用。

一、测定方法的筛选

用多点田间氮肥肥效试验中的下列三项作为标准值:(1)无氮区总吸氮量;(2)无氮区稻谷绝对产量;(3)无氮区对施氮区稻谷相对产量。将各标准值与数种实验室测定法的结果进行相关性测定,以便能初步确定选用那几种实验室测定方法。

田间试验分别在1972年及1973年进行。试验田块分布在浙江省26处有代表性的水稻田土壤上。

试验设计分NPK区(即施氮区)及PK区(即无氮区)两个处理,各设三次重复,以求其平均产量。

早稻品种一律用广陆矮4号,以消除由于品种不同所引起作物吸氮量的差异,并使稻谷稻草产量比值能较为一致。行株距一律为 4×5 寸。田块一律为春花田,以免除栽种绿肥的后遗影响。田间管理根据当地习惯,力求基本上一致。

施肥水平为:每亩施过磷酸钙30斤,硫酸钾15斤,均作为基肥。施氮区用硫酸铵70斤,

其中50斤作基肥,20斤作追肥,一律不用有机肥料,以免除有机肥料中氮的影响。小区面积在一个试验中均一致;不同试验点的小区面积不求完全一致。产量均折算亩产。稻谷、稻草均于晒干后分别称重计产。

实验室测定方法采用一种淹水培养法及八种提取测定法。把这些方法的结果与生物方法的结果进行相关性测定。

实验用的土壤样品均采自翻耕前的本田土壤。经风干后在木盘上研细,通过40目的筛,供实验及分析应用。

试验中所用的各种土壤速效氮测定方法均如表1所示。

表 1 土 壤 速 效 氮 测 定 方 法

方 法 名 称	土样重量 (克)	试 剂 种 类	试剂用量	提 取 办
MgO 蒸馏法	10	MgO	0.5克	加 H ₂ O 50 毫升直接蒸馏煮沸后蒸馏10分钟
CaO 蒸馏法	10	CaO	2克	同 上
0.5N NaOH 蒸馏法	5	0.5N NaOH	100毫升	煮沸后蒸馏15分钟
1N NaOH 扩散法	2	1N NaOH	5毫升	在30°C下扩散72小时
0.5N Na ₂ CO ₃ 提取全N法	2	0.5N Na ₂ CO ₃	50毫升	室温下振荡18小时后过滤、消煮、蒸馏
碱性KMnO ₄ 蒸馏法	5	0.32%KMnO ₄ 2.5%NaOH	25毫升 25毫升	煮沸后蒸馏15分钟
40°C淹水培养一周法	5	H ₂ O	12.5毫升	40°C下面培养一周加 0.1 克MgO 煮沸后蒸馏10分钟
0.01M NaHCO ₃ 提取全N法	5	0.01M NaHCO ₃	100毫升	室温下振荡半小时过滤、消煮、蒸馏
酸性水解法	1	0.2% H ₂ SO ₄	2毫升	在水浴上蒸干后加5.0% Na ₃ PO ₄ 7滴,搅拌过滤加MgO蒸馏

试验结果列于表2、3、4。

表 2 几 个 标 准 项 之 间 的 相 关 系 数 (r)

	无氮区总吸N量	无氮区稻草产量	无氮区稻谷相对产量
无氮区总吸N量			0.714**
无氮区稻谷产量	0.885**	0.563**	0.772**

表 3

各种化学测定方法的结果 (ppm)

方 号	MgO	CaO	0.5N NaOH	1N NaOH 扩散法	0.5N Na ₂ CO ₃	碱 性 KMnO ₄	淹 水 培 养	0.01M NaHCO ₃	酸 解
1	24	51	85	100	117	188	63	13	20
3	109	107	134	138	130	214	112	28	78
4	13	46	74	80	119	172	77	14	16
5	26	56	103	118	194	205	105	19	23
6	18	48	92	98	117	182	73	13	15
7	23	63	119	122	175	219	94	19	22
8	11	57	108	122	148	199	82	13	13
9	17	64	110	141	138	211	133	19	10
10	11	37	70	76	96	205	59	15	17
12	23	105	155	182	182	270	173	21	21
13	13	42	80	105	105	181	101	14	9
14	25	119	195	159	229	300	157	24	16
15	30	116	187	248	273	319	252	28	25
16	22	71	146	152	169	256	144	19	17
17	23	80	153	166	269	262	150	22	19
18	23	87	140	169	314	256	110	23	19
19	18	85	149	149	206	252	179	19	19
20	26	94	180	183	187	273	185	25	22
21	22	74	117	129	176	245	121	21	28
22	24	86	149	153	240	249	146	21	22
23	15	63	117	120	197	214	127	16	18
24	13	72	120	128	272	208	60	19	27
25	25	91	149	176	236	235	190	24	18
26	26	91	153	167	185	258	123	20	20
合 计	580	1808	3085	3380	4474	5573	3016	469	514
平均 ppm	24	75	129	141	186	232	126	20	21
斤/亩	7.2	22.6	38.5	42.2	53.9	69.7	37.7	5.9	6.4

表 4 标准项与化学测定值之间的相关系数(r)

标准项	无氮区总吸N量	无氮区稻谷产量	无氮区(稻谷)相对产量
化学测定法			
MgO 蒸馏法	-0.275	-0.306	-0.051
CaO 蒸馏法	0.271	0.052	0.361
0.5N NaOH 蒸馏法	0.320	0.160	0.295
碱性KMnO ₄ 蒸馏法	0.164	0.291	0.349
0.5N Na ₂ CO ₃ 提取全N法	0.282	-0.003	0.203
1N NaOH 扩散法	0.480*	0.300	0.4076
40°C 淹水培养法	0.504*	0.371*	0.452*
0.01M NaHCO ₃ 提取全N法	0.213	0.100	0.269
酸性水解法	-0.321	-0.418	-0.136

根据试验结果,浙江省水稻田土壤速效氮的各种测定方法中,以 40°C 一周淹水培养法及 1N NaOH 30°C 72 小时扩散法的测定结果,与生物测定结果之间的相关性较好。

从二个高产水稻试验点的产量情况及样品含氮分析的结果(表5),可知本省一季水稻稻谷产量每亩达1000斤,稻草产量约为800斤时;总吸氮量每亩约为20斤,合硫酸铵100斤。倘亩施硫酸铵70斤,当季吸收率不会超过60%,故大部分氮素尚需吸自土壤的速效氮。

表 5 高 产 水 稻 自 土 壤 中 吸 氮 数 量

地 址	稻谷产量 (斤/亩)	稻 谷 N%	稻谷吸氮量 (斤/亩)	稻草产量 (斤/亩)	稻 草 N%	稻草吸氮量 (斤/亩)	总吸氮量 (斤/亩)
富阳春江公社八一大队	930.0	1.44	13.39	672.0	0.678	4.56	17.95
余姚县农场	1013.0	1.35	13.68	854.0	0.724	6.18	19.86

二、扩散法的改进

根据第一次试验,初步提出了二种可供实验室应用的土壤速效氮测定方法。在这中间,淹水培养法需时一周,滴定终点不甚清晰,且手续也较扩散法麻烦;NaOH扩散法虽较为快速、简便,但原法是在30°C下扩散72小时。为了进一步提高扩散法的功效,缩短工作时间,以及克服由于夏季高温而影响测定工作等弊,特设计本试验。

试验方法中,把扩散温度分为30°C、35°C、40°C、45°C、50°C、55°C等六种;把扩散时间分为48小时及24小时二种;把NaOH浓度分为1N、1.2N、1.5N、2N等四种。用第一次试验中的供试土壤样品作为材料,进行比较试验。这样便可以从不同条件下的实验结果中,选用一种更好的测定方法。

这次试验在1974年进行。各种不同条件下的扩散法结果与无氮区吸氮量之间的相关系数列于表6。

表 6 不同条件下扩散法的结果与无氮区吸氮量之间的相关系数

30°C	24小时	48小时	35°C	24小时	48小时	40°C	24小时	48小时
1.0 N	0.237	0.368	1.0 N	0.274	0.395*	1.0 N	0.347	0.442*
1.2 N	0.391	0.396*	1.2 N	0.352	0.450*	1.2 N	0.353	0.464*
1.5 N	0.374*	0.407*	1.5 N	0.383*	0.418*	1.5 N	0.384*	0.457*
2.0 N	0.326	0.350	2.0 N	0.408*	0.410*	2.0 N	0.397*	0.454*
45°C	24小时	48小时	50°C	24小时	48小时	55°C	24小时	48小时
1.0 N	0.457*	0.452*	1.0 N	0.475*	0.494*	1.0 N	0.461*	0.466*
1.2 N	0.441*	0.450*	1.2 N	0.486*	0.478*	1.2 N	0.484*	0.471*
1.5 N	0.468*	0.489*	1.5 N	0.463*	0.483*	1.5 N	0.474*	0.467*
2.0 N	0.450*	0.488*	2.0 N	0.481*	0.467*	2.0 N	0.479*	0.459*

根据表6的数据,可以认为,适当提高扩散温度及时间,相关系数也随着提高,在扩散温度55°C以下,扩散48小时内,以50°C 1.0N为最好 $\gamma = 0.494$,在扩散24小时范围内,以50°C 1.2N为最好, $\gamma = 0.486$,相关性均显著。但温度超过50°C,相关系数的提高似乎不明显。而且温度过高,玻璃器皿容易破裂,因而也是不适宜的。

三、改进扩散法的验证

为了进一步确定 $1.2N$ $NaOH$ $50^{\circ}C$ 24 小时扩散法测定浙江省水稻土壤速效氮的可靠性,在第一、二次试验的基础上,于1974年进行了 N^{15} 稳定性同位素盆栽试验。用质谱法测定水稻体内 N^{15} 原子百分超,计算出A值,作为标准项。然后用统计方法求取各个土壤中扩散法结果与相应的A值之间的相关系数。

用12种本省水稻土壤供盆栽试验。土壤样品均经风干敲碎,通过1厘米孔径的筛。检去粗根及草屑后装钵,每钵装5公斤土壤。

施肥处理分为两种(施氮、无氮),各设四次重复。每钵基肥施硫酸铵1克(N^{15} 百分超10%)、硫酸钾1.2克、过磷酸钙1.2克。无氮处理免施硫酸铵。磷肥及钾肥与土壤拌匀,氮肥溶于水后再浇入土壤中。5月23日每钵追施0.3克硫酸铵。5月31日再次追肥,每钵0.2克硫酸铵。水稻品种为广陆矮4号。收获后谷粒及稻草晒干再分别称重。产量以每钵克数计算,取四次重复的平均值。对稻谷和稻草分别取样进行含氮量测定后又用质谱法测定 N^{15} 原子百分超。然后计算总A值(即包括谷粒及稻草吸氮量在内的A值)^[25]。质谱分析由上海化工研究院物化室协作进行。

谷粒及稻草的吸氮数值以及 N^{15} 原子百分超连同A值一并列于表7, A值与盆栽产量项目的相关性如表8所示。十二种土壤原始样品用四种实验室方法测定速效氮的含量见表9。A值与四种实验室方法结果之间的相关性见表10。

根据1974年对12种土壤进行 N^{15} 稳定性同位素盆栽试验的结果,进一步表明了 $40^{\circ}C$ 一周淹水培养法及三种康威皿扩散法对于测定浙江省水稻田土壤的速效氮含量是可以应用的。其中以改进了的 $50^{\circ}C$ $1.2N$ $NaOH$ 24 小时扩散法为最方便,扩散时间大大缩短,只需原法的三分之一。

表7 质谱分析结果以及无氮处理总吸氮量 (每钵)

编 号	N^{15} 原子百分超		a 值 (毫克)	A 值* (毫克)	b 值 (毫克)	肥 料 吸收率%	无N处理 吸N量(毫克)
	谷	草					
A	3.89	3.39	255.7	524.0	153.7	48.8	216.8
B	3.38	3.02	249.2	640.6	122.4	38.9	222.2
C	3.41	2.65	362.9	656.2	174.2	55.3	275.2
D	2.86	2.24	487.4	849.1	180.7	57.4	375.8
E	3.43	2.65	363.6	656.3	174.6	55.4	263.0
F	3.12	2.56	375.5	740.6	159.7	50.7	376.4
G	2.23	2.42	638.9	1066.6	188.7	59.9	605.0
H	1.57	1.65	941.5	1637.4	178.1	57.5	990.9
I	1.92	2.05	696.5	1294.6	169.5	53.8	721.4
J	2.29	2.23	570.4	1070.2	168.0	53.3	600.9
K	2.47	2.49	477.5	958.8	157.0	49.8	475.7
L	2.49	2.41	521.1	959.7	171.0	54.3	464.1

表 8 同位素试验结果与盆栽项目间的相关系数 (r)

盆 栽 项 目	无 N 处 理 吸 N 量	无 N 处 理 稻 谷 产 量	施 N 处 理 比 无 N 处 理 增 产 %
a 值	0.982**	0.788**	-0.895**
A 值	0.992**	0.988**	-0.934**

注：A 值的计算，根据Fried及Dean于1952年提出的式子〔25〕

$$\frac{A}{B} = \frac{a}{b} \quad \text{或} \quad A = B \times \frac{a}{b}$$

式中：A 为土壤中速效氮含量；B 为经 N^{15} 标记过的肥料氮使用量；a 为植物吸自土壤的氮；b 为植物吸自肥料的氮。

在这中间，B 为已知数；b 可用质谱法测定；(a+b) 为植物吸氮总量，可从植物分析结果得到。依此，即可计算出 a 及 A 的值。

表 9 盆栽土壤速效氮含量测定结果 (ppm)

编 号	一周淹水培养法	1.0N NaOH 30°C 72小时康威皿扩散法	1.2N NaOH 50°C 24小时康威皿扩散法	1.0N NaOH 50°C 48小时康威皿扩散法
A	86.7	96.5	124.9	149.1
B	46.9	44.0	56.9	74.1
C	40.4	77.6	100.0	114.6
D	103.3	108.6	119.3	142.2
E	56.8	112.0	140.3	173.2
F	179.0	205.9	253.0	317.1
G	126.2	172.3	224.3	268.0
H	205.5	299.8	362.3	437.7
I	191.6	307.6	355.0	436.0
J	160.9	248.1	313.7	387.8
K	151.1	168.9	200.3	248.2
L	131.6	153.4	190.9	219.7

表 10 同位素试验结果与四种实验室测定结果之间的相关系数 (r)

试验方法	一周淹水培养法	1.0N NaOH 30°C 72小时康威皿扩散法	1.2N NaOH 50°C 24小时康威皿扩散法	1.0N NaOH 50°C 48小时康威皿扩散法
a 值	0.756**	0.834**	0.834**	0.813**
A 值	0.797**	0.863**	0.856**	0.840**

四、改进扩散法的操作步骤

1. 试剂配制

(1) 1.2N NaOH 溶液：称取化学纯 NaOH 48 克，先用少量蒸馏水溶解，待冷至室温后用蒸馏水稀释至 1 升。

(2) 0.01N HCl 标准溶液：按照一般定量分析规定方法配制。

(3) 3% H_3BO_3 溶液：称取化学纯 H_3BO_3 30 克，先用少量蒸馏水溶解之，然后稀释至 1 升。加入 10 毫升混合指示剂。用稀 HCl 或稀 NaOH 溶液调至紫红色。

(4) 混合指示剂：先用 95% 酒精分别配制 0.1% 的甲基红溶液及 0.1% 的溴甲酚绿溶

液。然后按1:1比例混合即成。

(5) 特制胶水: 阿拉伯胶(称取10克粉状阿拉伯胶, 溶于15毫升蒸馏水中)10份、甘油10份、饱和 K_2CO_3 溶液5份, 混合在一起即成。(如有必要, 最好放置在 H_2SO_4 干燥器中以除去氨)。

2. 分析步骤

准确称取通过40目筛的风干土壤样品2克, 放置在康威皿的外圈, 水平地轻轻旋转康威皿, 使土壤铺平。在康威皿内圈加入2毫升3% H_3BO_3 溶液, 然后在外圈边上涂上薄薄一层特制胶水。盖上毛玻璃, 并旋转几次, 以使毛玻璃与皿边完全粘合。再慢慢移开毛玻璃的一边, 使康威皿露出一条狭缝, 迅速加入10毫升1.2N NaOH溶液至皿的外圈中, 立即密盖毛玻璃。然后水平地轻轻旋转, 使溶液与土壤样品充分混匀, 即将康威皿放入50°C的恒温箱中, 24小时后取出, 用0.01N HCl标准溶液滴定内圈 H_3BO_3 中所吸收的氨。

3. 结果计算

$$\text{土壤速效氮含量 (ppm N)} = \frac{NV \times 0.014}{W} \times 10^6$$

式中: N ——标准 HCl 溶液的当量浓度;

V ——滴定时所用标准 HCl 溶液的毫升数;

0.014——一个毫克当量 N 的克数;

W ——样品重量(克)。

五、小 结

1. 于1972—1973年进行了早稻田间氮肥肥效多点试验, 共24个试验点。分为无氮及施氮两种处理。氮肥增产效果从17.1%到144%(每亩施硫酸铵70斤)。可见浙江省各地水稻田土壤氮素肥力差异很大。

2. 对土壤氮素肥力的指标, 在田间试验的结果中以: (1) 无氮区绝对产量; (2) 无氮区相对产量; (3) 无氮区总吸收氮量等三项作为标准值。三项标准值之间的相关性均极为显著(表2), 故可认为田间试验是成功的。又, 无氮区稻谷产量与稻草产量之间的相关性也极显著($\gamma = 0.563^{**}$)。故在今后的相关性测定中可以单用稻谷产量而不必再考虑稻草产量。

3. 根据文献资料选用了九种可能适用于本省水稻田土壤速效氮测定的实验室方法。分别测定了全部试验点原始土壤的速效氮。对九种实验室方法的测定结果分别与三个标准项之间计算了相关系数。结果说明40°C一周淹水培养法以及1N NaOH 30°C 72小时扩散法的结果与标准项之间的相关性均显著。故初步认为这两种方法可以用来测定浙江省水稻田土壤的速效氮含量。

4. 由于一周淹水培养法滴定终点不甚清晰, 手续也较扩散法麻烦; 而原来的扩散法是在30°C下扩散72小时, 一则较为费时, 其次在夏季高温条件下不宜进行此项工作。为此, 对NaOH扩散法进行了条件试验。根据试验结果看出: 随着温度与时间的逐步增高, 相关系数也跟着增加; 但在50°C以上, 温度与时间因素的更改所引起相关系数的变化不甚显著。而且温度过高, 玻璃器皿容易破裂, 因而也是不适宜的。故采用1.2N NaOH,

在50°C下扩散24小时的方法,既可缩短工作时间,又克服了夏季高温影响之弊,并适当提高了测定结果与标准项之间的相关性。

5. 1974年对12种浙江省水稻田土壤进行了 N^{15} 稳定同位素盆栽试验。用质谱法测定了这些土壤的A值。实验结果证明A值与盆栽结果的各标准项之间的相关性极为显著(表8),可见盆栽试验是成功的。A值与40°C一周淹水培养法结果以及三种康威皿扩散法之间的相关性均极为显著(表10),故进一步证实了这四种方法可以用来测定浙江省水稻田土壤速效氮含量。

6. 作为对浙江省水稻田土壤速效氮测定的常规方法。本文推荐了1.2N NaOH 50°C 24小时扩散法。并介绍了本法的具体步骤。

参 考 文 献

- [1] Harmsen, G. W., Lindenberg D. J., Plant and soil, 2, 1, 1949.
- [2] Fitts, J. W., Bartholomew, W. V., Heidel, H., S. S. S. A. P., 17, 119, 1953.
- [3] Fitts, J. W., Bartholomew, W. V., Heidel, H., S. S. S. A. P., 19, 69, 1955.
- [4] Stanford, G., Hanway, J., S. S. S. A. P., 19, 74, 1955.
- [5] Saunder, D. H., Ellis B. S., Halls, A. J., Soil Sci., 8, 301, 1957.
- [6] Waring, S. A., Bremner, J. M., Nature, 201, 951, 1964.
- [7] Keeny, D. R., Bremner, J. M., Agron. J., 58, 498, 1966.
- [8] Sims, J. L., Wells, J. P., Tachett, D. L., S. S. S. A. P., 31, 672, 1967.
- [9] Sims, J. L., Blackmon, B. G., S. S. S. A. P., 31, 676, 1967.
- [10] Truog, L., Hall, H. H., Shikata, M. M., 1951. (转自 AOAC分析法第8版第15页)
- [11] Kresge, C. B., Merkle, F. G., S. S. S. A. P., 21, 516, 1957.
- [12] Merli, G. (1955). 见 C. A. (1956) 3692 f.
- [13] Livens, J., Agricultura, 7, 27, 519, 1959.
- [14] Confield, A. H., Nature, 187, 260, 1960.
- [15] Purvis, E. R., Leo Micah, W. M., J. Agric. Food Chem., 9, 15, 1961.
- [16] 朱兆良, 土壤学报, 10, 55, 1962.
- [17] Maclean, A. A., Nature, 203, 1307, 1964.
- [18] Keeny, D. R., Bremner, J. M., Nature, 211, 892, 1966.
- [19] Stanford, G., S. S. S. A. P., 32, 679, 1968.
- [20] Jenkinson, D. S., J. Sci. Food Agric., 19, 160, 1968.
- [21] Verstraeten, L. M. J., Vlassak, K., Liens, J., Soil Sci., 110, 299, 1970.
- [22] Stanford, G., De Mar, W. H., Soil Sci., 107, 203, 1969.
- [23] Stanford, G., De Mar, W. H., Soil Sci., 109, 190, 1970.
- [24] Smith, S. J., Stamford, G., Soil Sci., 111, 228, 1971.
- [25] Fried, M., Dean, L. A., Soil Sci., 73, 263, 1952.
- [26] Gallagher, P. A., Bartholomew, W. V., Agron. J., 56, 179, 1964.