

分析方法

土壤全氮的快速测定

——亚硝酰铁氰化钠催化苯酚光度法

丘 星 初

(江西省赣州地区农科所)

由消化、蒸馏、滴定三个步骤组成的测定有机氮的克氏(Kjeldahl)定氮法,仍为土壤全氮测定的标准方法。虽然由常量分析改成半微量分析,但手续仍然冗长。为了缩短消化时间,对催化剂的效能和选择的研究,直至近年来仍有文献报导^[1]。为了省去蒸馏操作,有用扩散法者;也有用纳氏(Nessler)试剂进行比色的方法。前者适用于大批样本之分析,但扩散时间在24小时以上,不能快速得到结果;后者虽然快速,但由于比色溶液的胶体性质和干扰物质不易消除,定量精度较差,常得偏高结果。

测定微量氨态氮的靛酚光度法,近年来又重新引起了人们的注意^[2-5],方法基于用次卤酸盐将氨氧化成卤胺,卤胺与酚类物质作用生成靛酚,借此进行光度测定。使用的次卤酸盐有次氯酸钠、次溴酸钠和氯胺 T;使用的酚类有苯酚和百里酚。对其反应的机理,也作过研究^[6]。本文用次氯酸钠氧化氨成氯胺,后者在亚硝酰铁氰化钠催化下与苯酚生成靛酚的显色反应,对土壤全氮进行光度测定,并考查了显色条件和样品消化方法的影响,在此基础上拟订了全氮分析步骤。实验表明,本法具有试剂易得,易于提纯,手续简便,分析快速,省电省药,结果准确可靠,且适用于大批样本之分析等优点,比较简、快、准、省,符合快速测定的要求。

一、仪器和主要试剂

1. 72型光电分光光度计 1厘米厚比色皿。

2. 标准氮溶液 称取110°C烘干过的分析纯硫酸铵0.2357克加水溶解后,移入500毫升容量瓶,用水稀释至刻度,摇匀。此溶液每毫升含氮100微克。

取上述溶液25毫升于500毫升容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀。此为工作液,每毫升含氮5微克。

3. 苯酚溶液 将10毫升分析纯苯酚溶解于45毫升5N氢氧化钠溶液中,用水稀释溶液至500毫升。

苯酚试剂应无色,如试剂纯度较差或日久氧化而成红色或粉红色,可用蒸馏法提纯。弃去初馏份后,收集182°C馏份使用。苯酚试剂愈纯,其稳定性也愈高。

4. **次氯酸钠溶液** 使用市售品或按下法自制:

在流水冷却下,将氯气(实验室可用浓盐酸作用于二氧化锰或高锰酸钾而制得)通入2*N*氢氧化钠溶液中,直达饱和为止(可闻到氯气味)。此为贮备液,其浓度大致在0.3—0.4*N*之间,其准确浓度按下述方法标定。

准确吸取5毫升贮备液于100毫升三角瓶内,用水稀释至30毫升左右,加入2克碘化钾和5毫升浓盐酸,以淀粉为指示剂,用0.1*N*硫代硫酸钠标准溶液滴定析出的碘。计算贮备液中次氯酸钠的当量浓度。

根据标定结果,取部分贮备液稀释至0.1*N*,此即为工作液。

5. **亚硝酰铁氰化钠溶液** 将0.14克亚硝酰铁氰化钠溶于5毫升水中,贮于滴瓶内备用。

该试剂水溶液稳定性很差,放置时 $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ 逐渐转变成 $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{H}_2\text{O}]$ 颜色变绿而失效。故宜在临用前配置。但若一次分析大批样本,可将0.14克试剂加入500毫升苯酚溶液中,这样在操作时可减少一次加液手续。

6. **甲基橙指示剂** 0.1%水溶液。

7. **5*N*氢氧化钠溶液** 将100克分析纯氢氧化钠溶解于适量水中,冷却后将溶液稀释至500毫升。

8. **硫酸** 优级纯,比重1.84。

9. **双氧水** 分析纯,浓度30%,该试剂浓度愈高愈稳定,故勿稀释使用。

10. **水** 用水纯度至关重要。农化实验室常因蒸铵、除铵及用氨水沉淀氢氧化物等操作而污染空气和蒸馏水,致使本法试剂空白光密度常超过0.1。本文用水系蒸馏水再经强酸型阳离子交换树脂处理一次,其除铵效果良好,试制空白光密度在0.02左右。

二、实验条件的考查

(一)显色条件的选择

1. **靛酚的吸收光谱** 按绘制标准曲线方法实验,所得结果如图1所示,可以看出,靛酚的吸收峰在波长623毫微米附近处。以下实验均选用此波长。

2. **酸度的影响** 用0.5*N*氢氧化钠溶液调节显色液的酸度,所得结果(图2)表明,显色液中氢氧化钠的浓度在0.044—0.063*N*之间具有最大光密度。不及0.044*N*或超过0.063*N*光密度均下降。本文选用0.045*N*,这样在显色液中由于加入次氯酸钠溶液而带入的游离碱,就可忽略而不顾。

3. **苯酚溶液的加入量** 加入不同量的苯酚溶液,所得结果如图3所示,苯酚溶液4—5毫升,具有最大光密度。故实验选用5毫升。为减少加液次数,按酸度试验结果,将苯酚溶于定量的氢氧化钠溶液中,一并加入。

4. **次氯酸钠溶液的加入量** 实验结果(图4)所示。当加入量不足时,显色不完全;过量时生成的氯胺发生分解,致使光密度下降。考虑到次氯酸钠溶液中的有效氯在三个月内稍有降低,因此,选用1毫升。

5. **亚硝酰铁氰化钠溶液的加入量** 实验结果(图5)表明,随亚硝酰铁氰化钠用量的增加,光密度下降,故实验选用0.05毫升。

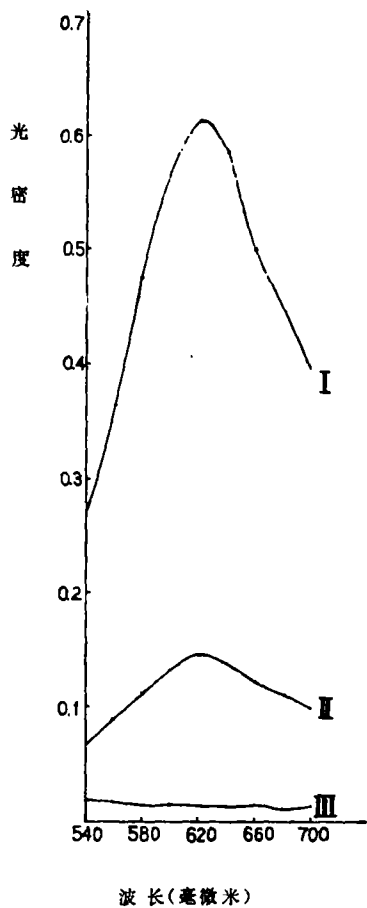


图1 脛酚的吸收曲线

I 25微克氮 II 5微克氮 III 试剂空白

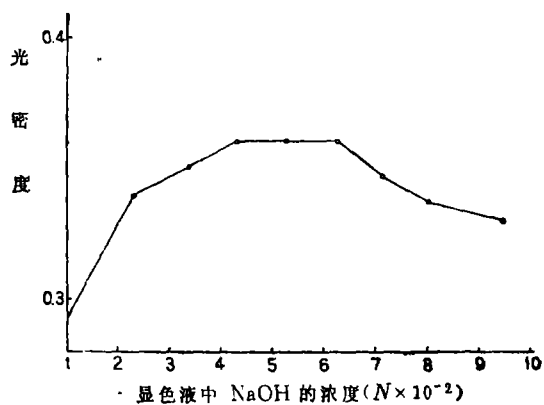


图2 酸度对显色的影响

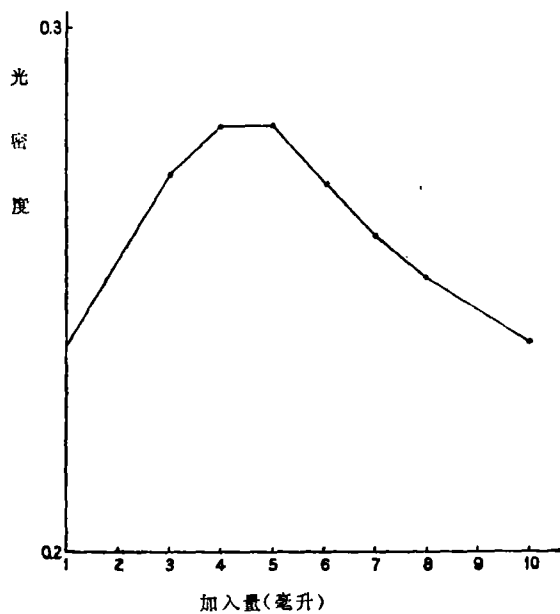


图3 苯酚溶液加入量的影响

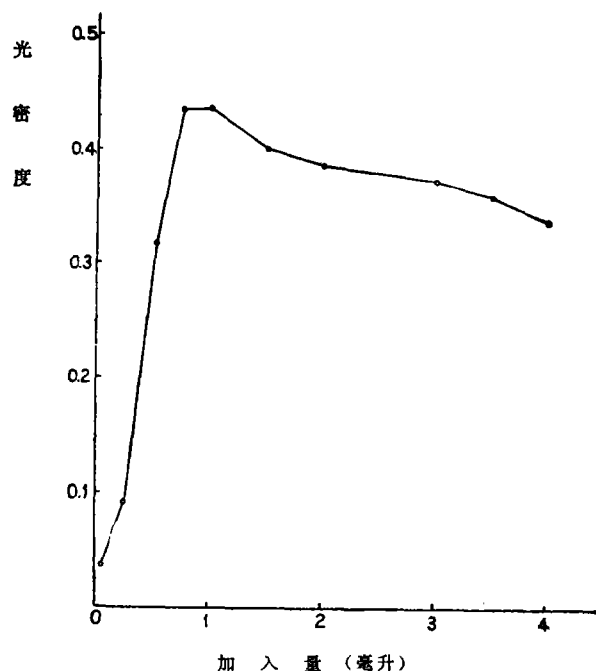


图4 次氯酸钠溶液加入量的影响

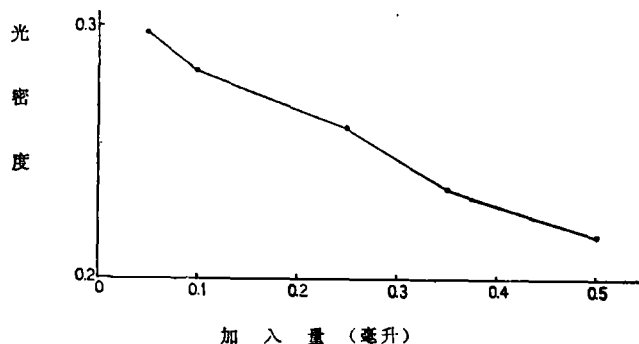


图5 亚硝酰铁氰化钠加入量的影响

6. 发色时间和有色溶液的稳定性 实验表明温度影响显色速度。室温较高,发色较快。在 32°C 室温下放置15分钟便能显色完全;在 25°C 下需40分钟才能显色完全。而在冬季室温低时,显色非常缓慢,如在 9.5°C 室温下需4小时才能显色完全。故室温低时,可在 25°C 的水浴放置40分钟进行发色。当显色完全后,有色溶液很稳定,放置36小时未发现光密度下降。

7. 共存元素的影响 在土壤样品的硫酸消化液中,残渣为酸不溶物,溶液中除铵外,尚有大量铝铁钙镁及少量钛锰和各种微量元素。大量元素的共存实验结果列于表1。可

表 1

共存元素的影响

(15 微克氮)

加入元素	加入形式	加入量 (微克)	测得氮量 (微克)	偏差 (微克)
Ca ⁺⁺	CaCl ₂	365	15.0	0
		730	15.1	+0.1
		1460	15.1	+0.1
Mg ⁺⁺	MgSO ₄	60	15.1	+0.1
		90	15.1	+0.1
		180	15.1	+0.1
Fe ⁺⁺⁺	FeCl ₃	50	15.1	+0.1
		100	15.2	+0.2
		250	15.7	+0.7
		500	17.8	+2.8
Al ⁺⁺⁺	AlCl ₃	125	15.0	0
		250	15.4	+0.4
		500	15.5	+0.5

以看出,铝铁量高时,表现为正干扰,钙镁能在较高浓度下共存而不影响结果。从赣南主要成土母质发育的水稻土来看,全钙常不超过1%,全镁不超过0.5%,因此钙镁的影响可不予考虑。而大量铁铝的影响则采取分离步骤。当用甲基橙作指示剂用碱中和和消化液时,铁铝呈氢氧化物沉淀,钛及部分微量元素可被共沉淀。当过滤时,这些离子可被除去,不再干扰测定。此时,由于溶液仍为酸性,铵不致挥发损失,也不被带正电荷的氢氧化铁等胶体沉淀所吸附,故对本法测定氮无影响。至于土壤中的微量元素,在本实验条件下,不会有显著量存在,从样品分析结果来看(表4),似无影响。

在消化样品加入催化剂元素硒在7.5克分子/升以下及中和消化液生成的硫酸钠在1克分子/升以下,均不影响测定^[5]。

(二)样品消化方法的比较

称取0.1克左右的土壤样品,按下述四种消化方法进行比较。

I. 加2毫升浓硫酸及1滴高氯酸,加热消化至溶液无色或淡绿色,残渣灰白色;

II. 加2毫升浓硫酸和5—10毫克硒粉,加热消化至溶液无色,残渣灰白色;

III. 加2毫升浓硫酸加热消化至冒浓烟,溶液呈酱油状后,取下冷却,加5—10滴30%双氧水,继续加热消化至溶液无色透明;

IV. 加2毫升浓硫酸加热消化数分钟后,取下冷却,加0.1—0.2克过硫酸钾,继续消化至溶液无色透明。

上述消化液均按本法测定含氮量。试验表明: I 法消化速度最快,几分钟内便可完成,其余方法均较慢。从分析结果(表2)来看, I 法重现性较差; II 法单独用硒作催化剂对氮有损失,致使结果偏低; IV 法因过硫酸钾试剂本身含氮,试剂空白光密度很高(表3)。 III 法结果与常规法一致,试剂空白值也较低,同时在消化液中不引入其他元素,消化时也不产生有毒气体,有利于环境保护和人员健康。故本文采用 III 法消化。

表 2 不同消化方法测定结果的比较 (N%)

土 方 壤 法	I	II	III	IV	常 规 法
紫 色 土	0.132	0.148	0.169	0.155	0.168
红 壤	0.122	0.110	0.119	0.115	0.122

表 3 不同消化方法的试剂空白光密度

方 法	消 化 试 剂	空 白 光 密 度*
I	2 毫升硫酸 + 1 滴 HClO_4	0.025
II	2 毫升硫酸 + 5—10 毫克 Se	0.026
III	2 毫升硫酸 + 5—10 滴 H_2O_2	0.021
IV	2 毫升硫酸 + 0.1—0.2 克 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$	0.078

* 几次测定的平均值

三、土壤全氮的分析方法

1. 土壤待测液的制备

精确称取通过100目筛孔的土壤样品 0.1 克左右于 50 毫升高型三角瓶内,加入浓硫酸 2 毫升,瓶口盖一小漏斗(最好是盖一小冷却器如图 6)。置于垫有石棉网的电炉上加热,调节火力使液面上的白烟回流,勿使冲出瓶外。数分钟后取出冷却,加入 5—10 滴 30% 双氧水,继续加热至黑色完全消失为止。如黑色褪不下去,还可加数滴双氧水,消化至溶液透明为止。

取下三角瓶加水 10 毫升左右,加甲基橙指示剂 1 滴,用 5 N 氢氧化钠溶液中和至接近指示剂变色时,放置冷却,再继续中和至指示剂变黄。然后将溶液和残渣一并移入 100 毫升容量瓶中,用水充分洗涤三角瓶,洗液并入容量瓶,最后用水稀释至刻度。用干滤纸过滤于干燥的三角瓶内备用。按上述同样方法,作一空白实验。

2. 氮的测定

吸取土壤待测液 5 或 10 毫升(使氮在 6—25 微克范围内)于 50 毫升容量瓶中,洗涤瓶口并将溶液稀释至 30 毫升左右,然后顺序加入苯酚溶液 5 毫升,亚硝酰铁氰化钠溶液 1 滴,次氯酸钠溶液 1 毫升,用水稀释至刻度,摇匀,于 25°C 水浴放置 40 分钟,用 1 厘米厚比色皿,以水为参比,于 623 毫微米波长处,测其光密度。减去空白实验光密度后,在标准曲线上查其含氮量。按下式计算结果:

$$N\% = \frac{\text{测得氮微克数} \times 10^{-6}}{\text{烘干样品重(克)}} \times \frac{\text{消化后定容毫升数}}{\text{显色吸取毫升数}} \times 100$$

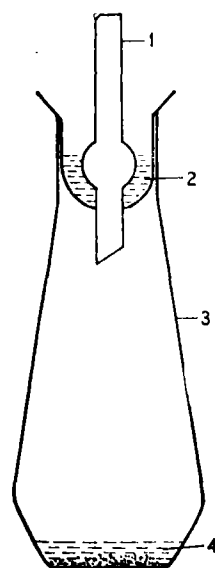


图 9 消化器皿

1—小冷却器 2—冷却水
3—50 毫升高型三角瓶 4—消化液

3. 标准曲线绘制

分取每毫升含氮 5 微克的标准溶液 0, 1, 2, 3, 4, 5 毫升于 50 毫升容量瓶中, 洗涤瓶口并将溶液稀释至 30 毫升左右, 按上述测定手续测定光密度。减去试剂空白光密度后, 在方格纸上绘制标准曲线。

4. 方法的准确度和精密度

与常规法比较测定的结果(表 4)表明, 本法与常规法的结果基本是一致的, 在样本试液中加入不同氮量所得结果(表 5)表明, 回收率均在 98% 以上。同一样品, 进行 15 次分析, 所得结果列于表 6, 由此计算

$$\left(\delta = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}} \right)$$

的标准误差为 ± 0.003 。

表 4 样 品 分 析 结 果 (N%)

土 壤	编 号	常 规 法	本 法
紫 色 土	1	0.168	0.169
	2	0.191	0.195
	3	0.175	0.178
	4	0.181	0.178
红 壤	5	0.122	0.119
	6	0.120	0.123
	7	0.121	0.124
	8	0.101	0.101

表 5 回 收 试 验 结 果

土 壤	样 品 含 氮 量 (微克)	加 入 氮 量 (微克)	测 得 氮 量 (微克)	回 收 率 %
紫 色 土	14.65	5.0	19.30	98.2
		10.0	24.40	99.8
	16.40	5.0	21.50	100.5
		10.0	25.90	98.1
红 壤	15.45	5.0	20.20	98.7
		10.0	25.20	99.0
	10.30	5.0	15.40	100.7
		10.0	20.20	99.5

表 6

方 法 的 精 密 度

序 号	分 析 结 果 (N%)	算 术 平 均 值 %	与平均值的偏差 %	与平均值的相对偏差 %
1	0.156	0.161	-0.005	-3.1
2	0.160		-0.001	-0.6
3	0.157		-0.004	-2.5
4	0.160		-0.001	-0.6
5	0.159		-0.002	-1.2
6	0.161		0	0
7	0.157		-0.004	-2.5
8	0.162		+0.001	+0.6
9	0.165		+0.004	+2.5
10	0.162		+0.001	+0.6
11	0.165		+0.004	+2.5
12	0.160		-0.001	-0.6
13	0.157		-0.004	-2.5
14	0.165		+0.004	+2.5
15	0.164		+0.003	+1.9

参 考 文 献

- [1] 分析化学文摘, 3, 67页 [3.746], 1975.
- [2] M. Namiki et al. Talanta, 11, 813, 1964.
- [3] 桥谷 博 吉田秀世, 分析化学(日), 17 (9), 1136 页, 1968.
- [4] Grasshoff K. Johannsen H., J. Cons. int. explor. mer., 34 (3), 516—521, 1972.
- [5] Струкова М. Л., Веслова Г.И., Аналит. химии 28 (5), 1025—1027, 1973.
- [6] 分析化学文摘, 10, 42 页 [10.231], 1974.