

过程冗长的方法。要得到满意的分析结果,除了质谱仪器保持良好的工作状态以外,必须重视从样品消化到仪器分析的每一个步骤。本文着重讨论了土壤、植株样品的消化, N^{15} 样品的高真空气化装置,空气对样品的污染,降低剩余本底等四个方面的问题。事实上质谱分析的每一个细节都很重要,任何一个步骤的疏忽,都会给分析结果带来很大的误差。

参考文献

1. Rittenberg, D. et al., J. Biol. Chem., 127, 291—299, 1939.
2. Bremner, J. M., in "Methods of Soil Analysis", Part 2, 1256—1286, Amer. Soc. of Agron., Madison Wis., 1965.
3. Martin, A. E. and Ross, P. J., "9th Inter. Cong. Soil Sci.", II 521—529, 1968.
4. 邢光熹,土壤农化, 5, 1—6, 1975.
5. 渋谷政夫、小山雄生,日本土壤肥科学杂志,44(11), 443—447, 1973.
6. Walker, R. L. et al., in "Isotope ratios as Pollutant source and behaviour indicators", 429—438, IAEA, Vienna, 1975.
7. Fieser, L. F., J. Amer. Chem. Soc., 46, 2639—2647, 1924.
8. Rittenberg, D., in "Preparation and measurement of isotopic tracers", 31—42 Ann. Arbor, Mich., 1948.
9. Glascock, R. F., in "Isotopic gas analysis for biochemists", 195—201, Academic Press inc., New York, 1954.
10. Francis, G. E. et al., in "Isotopic tracers", 277—281, The Athlone Press, University of London, 1954.
11. Bucris, R. H. and Wilson, P. W., in "Methods in Emzymology", 4, 355—366, Academic Press inc., New York, 1957.
12. Martin, A. E. et al., Aust. J. Soil Res., 1, 169—184, 1963.
13. 尤崇杓等,原子能, 6, 535—541, 1965.
14. Sprinson, D. B. and Rittenberg, D., J. Biol. Chem., 180, 707—714, 1949.
15. Ross, P. J. and Martin, A. E., Analyst, 95, 817—822, 1970.
16. Leicknam, J. P. et al., Intern. J. Appl. Radiation Isotopes, 19(3), 235—247, 1968.
17. Goleb, J. A. and Middelboe, V., Anal. Chim. Acta., 43, 229—234, 1968.
18. Cook, G. B. et al., Nature, 216, 475—476, 1967.
19. Perschke, H. and Proksch, G., in "Nitrogen 15 in soil-plant studies" 223—225, IAEA, Vienna, 1971.
20. Muhammd, S. and Kumazawa, K., Soil Sci. and Plant Nutri., 18(4), 143—146, 1972.
21. Feigenbaum, S. and Hadas, A., Soil Sci., 117(3), 168—169, 1974.
22. 狩野広美、米山忠克、熊沢喜久雄,日本土壤肥科学杂志, 45(11), 549—559, 1974.
23. Meyer, G. W. et al., Soil Sci., 117(6), 378—385, 1974.
24. Hüser, R. et al., Z. Analyt. Chem., 176, 429—436, 1960.
25. Sims, A. P. and Cocking, E. C., Nature, 181, 474, 1958.
26. Holt, P. F. and Hugtes, B. P., J. Chem. Soc., 77, 95—97, 1955.
27. Capindale, J. B. and Tomlin, D. H., Nature, 180, 701—702, 1957.

质谱测定 N^{15} 的方法

曹亚澄

(中国科学院南京土壤研究所)

一、质谱测定 N^{15} 的原理

(一)质谱计的工作原理

就质谱计的用途而言,可分为同位素质谱计和化

学分析质谱计。北京分析仪器厂制造的ZhT—1301型质谱计是一种多用途的同位素质谱计,这种仪器已在原子能、地质和农业部门广泛应用。

仪器分两个部分:测量部分和分析部分。测量部分主要担负着离子源的供电;离子流的放大和测量;电

磁铁励磁电流的供应和调节；真空系统中压强的测量等任务。分析部分是仪器的核心部分，其作用是建立仪器所需要的真空条件和实现被分析物质的电离、离

子聚焦、离子分离以及离子的收集。整个分析部分又由离子源、分析室、电磁铁、离子接收器及真空部件等组成。

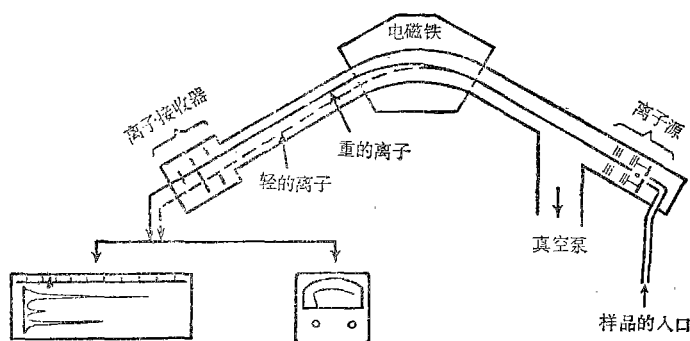


图1 质谱计工作原理示意图

仪器工作原理见图1。被分析物质的分子或原子在离子源中受热钨阴极发射出的慢电子轰击，失去电子，电离成正离子。在电离过程中，必须达到二点：首先电子轰击要具有足够的能量；其次要有足够的分子被电离。当符合这些要求时，任何分子在一定的仪器条件下，由电子轰击所产生的各种离子的相对丰度是不变的。电离过的正离子经拉出、聚焦、加速后，形成了具有一定能量和几何形状的离子束。然后进入分析室，由于扇形均匀横向磁场的作用，不同质量

的正离子将按照它们的质荷比 (M/e) 作不同程度的圆形轨道偏转，使之分开。质荷比大的离子，运动的轨道半径大，小的半径则小。测量聚落在离子接收器上的不同强度的离子流，计算同位素的相对含量。

在质谱计中，离子的运动符合下列方程式

$$M/e = 4.82 \times 10^{-5} H^2 r^2 / V$$

式中： M/e ——质荷比； H ——磁场强度；

r ——离子轨道半径； V ——加速电压。

方程式表明，如果 H 和 V 不变，一种离子的轨道半径与它的 M/e 的平方根成正比。如果其它保持不变，改变 H 调节离子的轨道半径，就可使某一确定质量的离子束聚落在接收板上。因此，磁场强度则可作为质量的量度。离子接收器上接收到的离子流强度经静电计放大，由自动电位差计绘出质谱图，或直接在直流电压表上读数。

真空知识表明，气体分子在常压(760毫米汞柱)下平均每移动0.1微米就要碰撞一次，而在 10^{-7} 毫米汞柱的压强时，气体分子每行进1000米才相碰一次。为了尽量减少被分析物质的离子与残余气体分子碰撞而使能量遭致损失，离子源和分析室中的真空度一定要维持在 3×10^{-7} 毫米汞柱以上。仪器高真空是由二只水银扩散泵来获得的。在电离过程中，气体分子的电离不一定是定量的，测量的只是不同质量离子的相对含量，不是它们的绝对量。因此，在分析时只要保证有一定的样品量，而不必要求知道准确的样品量。没有电离的气体分子连续不断地被抽气泵抽去。

用质谱计测定氮的同位素比值存在着一个仪器的剩余本底问题。由于空气中含有78%的氮气，仪器的真空度直接影响着本底强度的高低。有时仪器的真空

度虽达极限真空，而本底强度仍然很高，这时离子源(特别是阴极和电离盒)的清洁程度是个关键。仪器要连续启动并经长时间烘烤后才能获得低而稳定的本底强度，必要时还得清洗离子源。

(二) 氮离子峰的选择和计算公式

氮有六个同位素(表1)，只有质量14和15的是稳定性的。在其他四个放射性同位素中， N^{13} 的半衰期最长，但也只有10.05分，因此示踪研究一般都使用富集

表1 氮的稳定性和放射性同位素

质量数	自然丰度	半衰期
12	—	0.0125秒
13	—	10.05 分
14	99.634%	—
15	0.366%	—
16	—	7.38 秒
17	—	4.14 秒

N^{15} 的化合物。自然物质的 N^{15} 丰度为0.365%。所谓富集 N^{15} 的化合物，就是用同位素交换法使 N^{15} 的原子百分数高于自然丰度的物质。丰度即同位素的原子百分数。

在质谱计中，氮气分子进入离子源经电离后出现质量不同的离子峰(表2)。由于质量14、15峰的强度比质量28、29的峰强度小10倍，质量14 $\frac{1}{2}$ 峰的存在，使这一区域的分辨本领变坏，而且质量14、15的峰又是原子离子峰和双电荷分子离子峰的叠加，因此在测量时一般不选用质量14和15的峰，而是用质量28、29

表2 氮气分子在质谱计中经电子
轰击后形成的离子

质 量 数	离 子
30	$[\text{N}^{15}\text{N}^{15}]^+$
29	$[\text{N}^{14}\text{N}^{15}]^+$
28	$[\text{N}^{14}\text{N}^{14}]^+$
15	$[\text{N}^{15}]^+$ 和 $[\text{N}^{15}\text{N}^{15}]^{++}$
$14\frac{1}{2}$	$[\text{N}^{14}\text{N}^{15}]^{++}$
14	$[\text{N}^{14}]^+$ 和 $[\text{N}^{14}\text{N}^{14}]^{++}$

和30的分子离子峰。当样品的 N^{15} 丰度小于5%时,质量30峰(即 $[\text{N}^{15}\text{N}^{15}]$ 离子峰)的强度太小,难以精确测量,这时只能测量质量28和29的离子流强度。将自然丰度的氮气通入质谱计,测得的质量28和29的离子流强度比是136:1,用下述公式计算出同位素的丰度。

在用次溴酸盐氧化氮成 N_2 时,就同位素来讲, N_2 分子的形成是随机结合的[1]:

$$(P+q)^2 = P^2 + 2Pq + q^2 \quad (1)$$

P 表示 N^{14} 的原子部分, q 表示 N^{15} 的原子部分。 (1) 式中右边各项在质谱计上分别相当于质量28 $[\text{N}^{14}\text{N}^{14}]$ 、质量29 $[\text{N}^{14}\text{N}^{15}]$ 和质量30 $[\text{N}^{15}\text{N}^{15}]$ 的质谱峰。在 N^{15} 丰度低于5%时,测得的离子流强度比(R)为:

$$R = \frac{\text{质量 28 的离子流强度}}{\text{质量 29 的离子流强度}}$$

$$\text{可写成} \quad R = \frac{P^2}{2Pq} = \frac{P}{2q} \quad (2)$$

$$\text{已知 } \text{N}^{15} \% = \frac{\text{N}^{15} \text{ 原子数}}{\text{N}^{14} \text{ 原子数} + \text{N}^{15} \text{ 原子数}} \times 100$$

此式也可写成

$$\text{N}^{15} \% = \frac{q}{P+q} \times 100 \quad (3)$$

将 (2) 式代入 (3) 式,得

$$\text{N}^{15} \% = \frac{1}{2R+1} \times 100 \quad (4)$$

这是一般计算 N^{15} 原子百分数的公式。当 N^{15} 丰度超过5%,质量30的离子流强度已增强到可以精确测量时,也可以以质量28、29、30的峰值来计算 N^{15} 原子百分数。其公式为:

$$\text{N}^{15} \% = \frac{[29] + 2[30]}{2([28] + [29] + [30])} \times 100 \quad (5)$$

在我们的测量中看出: N^{15} 丰度在30%以下,均可以用 (4) 式计算;如果 N^{15} 丰度在30%以上,就应

以 (5) 式计算,否则结果明显偏低(表3)。

表3 不同 N^{15} 丰度的样品用两种计算方法得出的结果(N^{15} 原子%)

计算方法	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5
以 (4) 式计算	9.82	23.70	30.49	61.73	78.00
以 (5) 式计算	9.89	23.77	30.59	63.66	81.68

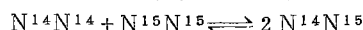
(三)仪器的准确度和精密度

工作一开始,为了检查仪器的性能,必须测定仪器的准确度和精密度。

1. 仪器的准确度 指所测得的同位素比值与标准测量值的偏差。

(1) 参比标准:用费塞(Fieser)[2]溶液去氧后的本实验室空气作标准样品,测定 N^{15} 的自然丰度。国际上一般公认的 N^{15} 自然丰度测量值为 $0.365\% \pm 0.001$ 或 $0.3663\% \pm 0.0004$ 。参比标准的结果可以显示出仪器的性能和状态。与标准测量值相比,如果测得的参比标准值偏低,说明仪器的电参数不佳,电离不完全,有质量歧视效应;反之,如果测定值偏高,可以推测为有其他离子的叠加,分析室、离子源不干净。我们在工作开始时,反复多次测定了85个参比标准样品,经500个比值计算得出 N^{15} 原子百分数为 $0.369 \pm 0.003(\bar{X} \pm S)$, $0.8\%(C.V.)$,结果与国内的和国内有关单位的测量值相近。

(2) 平衡常数:由于在次溴酸钠的氧化反应中,氮原子随机结合,因此存在下列平衡式



在室温下反应的平衡常数在理论上和试验中均得是4.00。

$$\frac{[\text{N}^{14}\text{N}^{15}]^2}{[\text{N}^{14}\text{N}^{14}][\text{N}^{15}\text{N}^{15}]} = 4$$

我们测量了 N^{15} 丰度为23.59%的硫酸铵,根据 N_2^{28} 、 N_2^{29} 和 N_2^{30} 的强度,计算出三种分子间的平衡常数 K 值,结果为4.07,与真值相符。

2. 仪器的精密度 指结果的再现性,即所得各测定值之间的偏差。我们对多种样品的自然丰度进行了重复测定,从结果(表4)看出,样品的测定误差是很小的。低丰度($<1\%$)样品的测定误差一般在1%以下,高丰度样品的测定误差则更小。

另外,三个富集 N^{15} 的硫酸铵样品,在不同的时间用三种不同型号的仪器测定其 N^{15} 原子百分数,从测得的结果(表5)可以看出,除个别测定值外,其余结果都十分相近。

表4 一些物质的 N^{15} 自然丰度测定值

测定物质	硫酸铵 (上海试剂四厂)	氯化铵 (上海试剂一厂)	苏南水稻土 (底 层)	水稻样品 (茎 叶)	参比标准 (本实验室空气)
平均值	0.378	0.382	0.367	0.369	0.369
标准差(S.D)	± 0.002	± 0.005	± 0.002	± 0.002	± 0.003
变异系数(C.V)	0.5%	1.3%	0.6%	0.6%	0.8%

表5 不同型号仪器的测定结果*(N^{15} 原子%)

样品号	仪器型号	ZhT—1301	M—86	MS—10
样品 1		11.99	12.03	12.05
样品 2		11.26	11.30	11.27
样品 3		12.72	12.75	13.03

* M—86和MS—10 两仪器的测定结果是由吉林农科院提供。

上述指标说明该仪器的性能是符合工作要求的。

二、质谱测定 N^{15} 的方法

进行质谱测定,必须将元素转变成一种适合的气体。这种气体的分子量较低,分子结构尽可能地简单,易从有机或无机化合物中制取,在质谱计中它们又易被抽除掉。对氮来说,符合这种要求的是氮气。

1939年 Rittenberg 建立了质谱测定 N^{15} 的方法。近年来许多工作者对测定方法提出了某些改进,《 N^{15} 示踪以及测定方法的进展》一文[3]对此作了一些综合性的介绍。但就质谱测定 N^{15} 的方法来说,一般仍分为三个步骤:将标记氮转变成铵;在真空条件下,将铵转变成 N_2 和质谱测定氮的同位素比值。在我国尤崇杓等人[4]首先发表了质谱分析生物样品 N^{15} 的方法。我们参照 Bremner (1965)[5]介绍的方法,并做了试验。现将我所测定的方法介绍如下:

(一)将标记氮转变成铵

1. 试剂

(1) 硫酸钾—催化剂混合物:称取100克 K_2SO_4 、10克 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 和1克Se粉,在玛瑙研钵中磨碎,混匀,置于试剂瓶中保存。

(2) 硼酸—指示剂溶液:称取100克硼酸溶解在200毫升热的蒸馏水中,冷却后加入1000毫升95%的乙醇和100毫升混合指示剂溶液(溶解0.033克溴甲酚绿和0.066克甲基红在100毫升95%的乙醇中)。然后逐

滴加入0.1N NaOH到溶液呈紫红色,pH约5.0。定容至5000毫升,用前充分混合。

(3) 10N NaOH 溶液:称取2000克NaOH溶于3000毫升蒸馏水中,待冷却后再加入2000毫升去 CO_2 的蒸馏水。混匀后贮于塑料瓶中,塞紧瓶塞,避免与空气中的 CO_2 接触。

2. 测定步骤 称取约含1.5毫克氮的土壤样品于凯氏消化瓶中,加入8毫升浓硫酸和2.5克硫酸钾—催化剂混合物,置于通风柜中消化。待消化液呈清亮后,再继续消煮5小时。消化完全后冷却,用水将消化液移入容量瓶中定容。吸取一部分置于半微量蒸馏器中,加10N NaOH溶液进行蒸汽蒸馏。馏出液接收在内盛2%硼酸—指示剂溶液的三角瓶中,用0.01N H_2SO_4 标准液滴定,然后计算分析样品中的含氮量。为了防止样品间的交叉污染,特别是在蒸馏了高丰度 N^{15} 样品以后立即蒸馏低丰度 N^{15} 样品或自然丰度样品时,必须在样品的蒸馏间隔中用蒸馏少量(约15毫升)95%乙醇的办法来除去蒸馏器所滞留的微量铵。

植株样品一般是称取0.5克,加3.3克硫酸钾—催化剂混合物,加10毫升浓硫酸进行消化。消化液清亮后的消煮时间为2小时。其他步骤同土壤样品的测定。

用0.2~0.4毫升1N H_2SO_4 溶液酸化滴定过的馏出液,并放于低温(约60°~80°C)真空干燥箱中浓缩至1~2毫升或直至蒸干。为保证有足够的 N_2 供质谱分析,馏出液中所含的氮量不得少于0.5毫克,一般要求在1毫克左右。如暂不进行质谱分析,含铵的馏出液应置于带塞的瓶子中,放于冰箱中保存,以避免微生物的生长和防止样品溶液被大气中的 NH_3 污染。

(二)将氮转变成氮气

1. 试剂 次溴酸钠—碘化钾溶液:溶解200克NaOH于300毫升水中,用冰冷却溶液。取一半冷却了的溶液置于500毫升三角瓶中,将瓶子浸埋在敲碎的冰中。在30分钟时间内往溶液中加入60毫升 Br_2 。加 Br_2 时应剧烈地搅拌,并控制加入的速度,以使溶液的温度不超过5°C。当 Br_2 加完以后,再将另一半的NaOH溶液加入,搅拌混合数分钟,塞紧瓶塞,置于冰箱中贮

存。在冷藏期间，次溴酸钠溶液会形成大量的白色 NaBr 沉淀，用前应过滤，并用等体积的 0.2% 的 KI 溶液稀释次溴酸钠清液。1 毫升此溶液可将 5~6 毫克的 NH_4 氧化成 N_2 。如果置于冰箱中保存，此试剂在六个月内均有效。

2. 测定步骤 吸取上述浓缩的样品液置于带标准玻璃磨口接头的 Y-型反应瓶的一臂中，另一臂注入 2 毫升碱性次溴酸钠—碘化钾溶液。在加后一种溶液时，必须十分小心，保证不使次溴酸钠溶液滴入含样品液的臂内，或者滴在反应瓶上。将 Y-型反应瓶连上真空气化装置，通过机械泵先抽反应瓶的低真空，加温处理除去溶液中的溶解空气，随即由高真空泵抽反应瓶的高真空。关闭阀门，转动反应瓶，使两液混合，氨经次溴酸钠氧化转变成氮气。反应后的混合液通常应保持黄色，这表明有过量的次溴酸钠存在，将反应瓶浸入液氮冷阱中，冰冻除去在氧化反应过程中产生的杂质气体和水蒸汽。打开连接质谱计的真空气化装置上的放样阀门，将样品气体送入质谱计的进样管导。

(三) 质谱测定氮的同位素比值

1. 试剂 去氧用的费塞溶液：称取连二亚硫酸钠 16 克、氢氧化钠 6.6 克和 β -萘酚磺酸钠 2 克溶于 100 毫升蒸馏水中，配制成深红色的溶液。

2. 测定步骤 在分析前，质谱计应具备下列工作

条件：分析室和离子源的压强应在 $1\sim3\times10^{-7}$ 毫米汞柱；质量 28 和 29 的本底强度应低而稳定，在我们实验室里，在最佳电参数时的仪器本底值通常是 28 峰为 60~90 毫伏，29 峰为 1.5~3.0 毫伏。

测定样品时，打开质谱计的定量阀，将一定量的气体通入离子源。气体的进样量一般控制在 N_2^{28+} 的强度相当于输出电压的 15 伏左右。待测到峰后，按等时间间隔轮流测量质量 28 和 29 的离子流强度，几分钟内重复测量 4 次，并测量 O_2^{18+} 和 Ar^{40+} 的强度。

在气体样品瓶中注入约 1/3 体积的费塞溶液，关闭活塞，剧烈摇动 20 分钟并静置数小时。用费塞溶液去氧后的实验室空气中的氮气作参比标准。

在我们的实验室里，由于装备了直接连接质谱计的真空气化装置和使用了带标准玻璃磨口接头的反应瓶，因而提高了分析的速度，包括结果计算每小时可测定 6 个样品。

3. 结果计算 在样品没有受到空气污染的情况下，从仪器上测得的质量 28 和 29 的离子流强度应扣除相应的剩余本底强度。如果要进行空气污染的校正，还应扣除空气提供给质量 28 和 29 的离子流强度。扣除后的结果用等差插入法计算质量 28 和 29 的离子流强度比 (R)，最后用 R 的平均值按 (4) 式计算得 N^{15} 原子百分数。现举例如下。

如果当天仪器的本底强度为 $[28]=0.09$ 伏， $[29]=0.003$ 伏，则计算方法是：

样 品 测 量 数 值		扣 除 本 底 后 的 数 值		R
[28] (伏)	[29] (伏)	[28] (伏)	[29] (伏)	
18.30	0.390	18.21	0.387	46.87
18.15		(18.14)		
	0.385	18.06	(0.385)	46.91
18.00		(17.99)	0.382	47.09
	0.385	17.91	(0.382)	46.38
18.00		(17.91)	0.382	46.88
	0.385	17.91	(0.382)	46.88
			0.382	R 46.92

N^{15} 原子% = 1.05

另一样品，如果测量数值不变，只是由于漏入空气的污染而使测得的氨峰增高了 0.012 伏，而 $\text{N}_2^{28+}/\text{Ar}^{40+}$ 比是 45.91。那末由空气提供给质量 28 和 29 的离子流强度分别是 0.55 伏和 0.004 伏。将样品的测量数值分别扣除相应的本底值和空气污染提供的强度，用

等差插入法计算出的 R 值为 45.97，则 N^{15} 原子% 即为 1.08。

如前所述，参比标准值显示了仪器的性能和状态。随着仪器状态的变动，样品的测量值会相应的波动。为了使不同时间测得的结果能在同一仪器状态下比较，

算出的样品 N^{15} 原子百分数还需用仪器的参比标准来进行校正。一般 N^{15} 丰度低于5%的样品才进行这种校正。参比标准值的变化对高丰度 N^{15} 样品的结果影响很小。如果当天仪器的参比标准测量值是0.375%，则样品的 N^{15} 丰度测量值应用下式校正

$$\text{样品 } N^{15} \text{ 原子 \%} = \frac{0.369}{0.375} \times \text{样品的测量值}$$

经这种校正后，上述二例的样品 N^{15} 原子百分数分别得1.03%和1.06%。

三 N^{15} 示踪结果举例

质谱分析也和化学分析一样，在测定过程中，总包含着各方面所造成的误差。 N^{15} 质谱测定方法的误差主要来自于样品的预处理过程，即样品的消化、蒸馏和汽化，仪器本身带来的误差应该说是较为简单并易于消除的。 N^{15} 示踪试验的结果误差是田间试验误差和样品处理直至质谱测定一系列误差的累加。与测定误差相比，田间试验误差则是关系到示踪结果和由此得出的结论是否正确的一个先决条件。根据我所几年来使用 N^{15} 示踪所得的结果看来，必须在田间试验的布置、分析样品的采集和样品的预处理过程的每一步严格要求，精心操作，才能获得误差很小的试验结果。现举三个例子来加以说明。

1. 1974年我所氮组在苏南水稻土上进行了氮素平衡试验[6]，用 N^{15} 丰度为5%的硫酸铵作示踪肥料，表施到土壤中。水稻成熟后测定两层土壤中的 N^{15} 残留量。经测定，该土壤的 N^{15} 自然丰度是0.367~0.370%；0~15厘米的表层土壤中 N^{15} 丰度的平均值为0.395%；15~30厘米深层土壤中的 N^{15} 丰度为0.367%（表6）。结果明显地看出 N^{15} 标记肥

表6 试验土壤的 N^{15} 丰度测量值

土壤深度（厘米）	0~15	15~30
自然丰度	0.370%	0.367%
I	0.391%	0.370%
II	0.339%	0.365%
III	0.395%	0.367%

料在表层土壤中有一定的残留，而在深层土壤中则检测不到。试验重复三次，重复间的误差很小，试验得到了满意的结果。

2. 我所长效肥组1977年做了碳酸氢铵粒肥在水田中的扩散移动试验[7]（图2）。离肥料点以10、20和30厘米的间隔采集水稻植株样品，采样时间分施肥

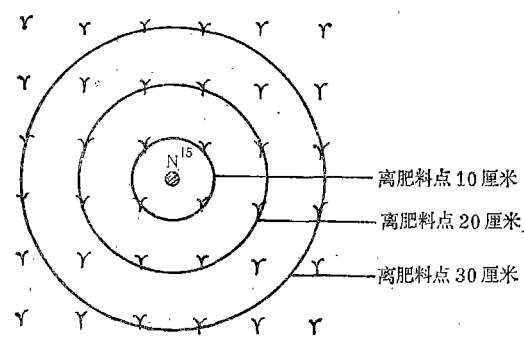


图2 碳铵粒肥在水田中扩散移动试验示意图

后10、20、30、45天和收获期等5次。结果（表7）不但清楚地显示出肥料在土壤中的扩散情况，而且也说明了即使在植株体内存在着 N^{15} 微小的富集，测定方法也能将它精确地反映出来。

表7 稻株吸收 N^{15} 标记碳铵粒肥的变化（ N^{15} 原子%）

采样时间 离肥料点距离 (厘米)	10天	20天	30天	45天	收获期
30	0.371	0.369	0.368	0.369	0.369
20	0.375	0.380	0.393	0.414	0.404
10	1.12	1.49	1.93	1.70	1.52

3. 长效肥组又试验了一种田间条件下用酚红指示剂快速检验氨损失的方法。为了检测指示剂所显示的红色边缘是否就是氨扩散的界限，用 N^{15} 标记碳酸氢铵作了示踪试验（图3）。结果（表8）证实：红色边缘外约1厘米的地方就检测不到 N^{15} 标记的碳酸氢铵。 N^{15} 的测定结果和指示剂所显的颜色界限吻合。

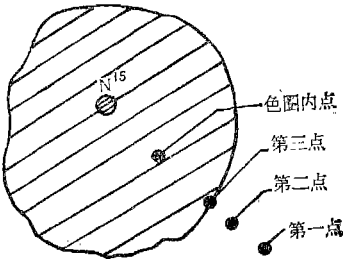


图3 显色圈内外采样点示意图

表8 显色圈内外采样点 N¹⁵丰度的变化

土壤类型 采样点	中性土	酸性土
土壤自然丰度	0.376 ± 0.002	0.371 ± 0.003
第一点	0.376 ± 0.003	0.386 ± 0.003
第二点	0.376 ± 0.002	0.383 ± 0.002
第三点	0.389 ± 0.003	0.461 ± 0.026
显色圈内点	1.79 ~ 4.08	7.55 ~ 8.09

注：表列数据系四个重复的平均值和标准差 ($\bar{X} \pm S$)。

从上述列举的试验结果可以看出，样品 N¹⁵ 自然丰度的测定结果是否准确是极为重要的。如果分析工作不严格，得不到准确的自然丰度值，这不但会给试验结果带来严重的误差，有时甚至还会导致试验的失败。

四、N¹⁵示踪结果的计算

由于试验要求不同，计算示踪结果的方法也不同。目前工作一般计算两种结果，即作物对氮肥的利用率和氮肥的氮素平衡。要计算作物对氮肥的利用率，应得到下列几项结果：

1. 植株的总含氮量 植株一般分茎叶和籽粒，分别烘干称重，测定全氮量。也有的试验包括有根系。不包括根系的应叫作物地上部分对氮肥的利用率。

2. 植株的 N¹⁵ 原子百分超 即由测得的植株 N¹⁵ 原子百分数减去植株 N¹⁵ 自然丰度而得。如果得不到准确的样品 N¹⁵ 自然丰度值，而企图以一固定值（或 0.365%，或仪器的参比标准值）来代替是不恰当的，而应寻找原因，重新测量。

3. 施入 N¹⁵ 标记肥料的总氮量。

4. 标记肥料的 N¹⁵ 原子百分超 由测得的标记肥料的 N¹⁵ 原子百分数减去同种肥料的 N¹⁵ 自然丰度值。在测量中，我们观察到商售标记肥料的所标丰度不是一个精确值，有时所标丰度与测量值之间相差很大（表 9）。因此，供试验用的 N¹⁵ 标记肥料应随样品同时测定其精确的 N¹⁵ 原子百分数。

表9 商售所标丰度和仪器测定丰度间的差异

肥料品种	硫酸铵				碳酸氢铵
商售丰度	13.2	24.6	25	80	10.8
测定丰度	13.81	27.47	23.79	81.68	10.48

另外，供试验用的标记肥料 N¹⁵ 的丰度应视试验目的而定。当进行有机肥料的示踪试验或研究土壤氮素的转化，以及需要分级测定土壤各种形态氮时，一般应使用高丰度的 N¹⁵ 标记肥料。例如，我所曾用 32% 丰度的硫酸铵标记绿萍，使绿萍体的 N¹⁵ 丰度达 8%。将萍体翻入土中，随后连栽第三季水稻。测得第一季水稻中的 N¹⁵ 丰度为 2.1%；第二季稻中是 1.2%；第三季的水稻体中 N¹⁵ 丰度仍有 0.87%。做氮素平衡试验时，用 10% 的 N¹⁵ 标记肥料就可以了，在此试验所得的水稻样品中，N¹⁵ 丰度可达 2—3%；土壤中的丰度也在 0.4% 左右。如果只做作物对氮肥的利用率试验时，由于不需要分析土壤样品，所用肥料的 N¹⁵ 丰度可以更小些。我所曾用 N¹⁵ 丰度为 1.6% 的硫酸铵做过这样的试验，在植株样品中仍可测到 0.8% 丰度的 N¹⁵。

测得上述几项结果后，根据下式计算作物的氮肥利用率

$$P = \frac{W_1 \times C_1 \times A_1}{W_2 \times C_2 \times A_2} \times 100$$

式中：P—作物对氮肥的利用率(%)；

W₁—植株的干物重(克)；

C₁—植株的含氮量(%)；

A₁—植株的 N¹⁵ 原子百分超；

W₂—施入肥料的重量(克)；

C₂—肥料的含氮量(%)；

A₂—肥料的 N¹⁵ 原子百分超。

如果计算氮肥的氮素平衡，还应得到植株根系和不同层次土壤的重量、含氮百分数、N¹⁵ 原子百分数以及相应的 N¹⁵ 自然丰度等数值，计算其氮素的总回收百分数和亏缺百分数。

参考文献

- [1] Hauck, R.D. et al., Soil Sci., 86(5) 287—291, 1958.
- [2] Fieser, L.P., J. Amer. Chem. Soc., 46, 2639, 1924.
- [3] 邢光熹, 土壤农化, 5, 1—6, 1975.
- [4] 尤崇杓等, 原子能, 6, 535—541, 1965.
- [5] Bremner, J. M., in "Methods of Soil Analysis", Part 2, 1256—1286, Amer. Soc. of Agron., Madison Wis., 1965.
- [6] 朱兆良等, 科学通报, 11, 503页, 1977.
- [7] 陈崇业、范钦楨, 土壤学报, 15, 75—82, 1978.