

应用拉曼和中红外衰减全反射光谱测定溶液和土壤中的硝酸盐^①

邵艳秋, 杜昌文*, 申亚珍, 马 菲, 周健民

(土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要: 为比较拉曼光谱和红外光谱在溶液和土壤中硝酸盐含量定量分析的适用性, 采用两种光谱对溶液和土壤中的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量 (0~200 mg/L) 进行快速测定。结果表明, 溶液中硝酸盐的拉曼特征峰在 $1\,047\text{ cm}^{-1}$ 处, 该特征峰强度与 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度成正比, 对 $1\,035\sim 1\,060\text{ cm}^{-1}$ 波段拉曼光谱峰面积和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量进行线性回归, 决定系数 R^2 为 0.995 4; 溶液中硝酸盐的中红外衰减全反射光谱特征吸收峰在 $1\,350\text{ cm}^{-1}$, 吸收峰与 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量成正比, 特征吸收区 $1\,200\sim 1\,500\text{ cm}^{-1}$ 峰面积与 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量的决定系数 R^2 为 0.991 1, 表明两种光谱都可用于溶液中硝酸盐的测定。对于土壤样品, 红外光谱在 $1\,250\sim 1\,500\text{ cm}^{-1}$ 处有硝酸盐吸收峰, 且吸收峰与 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量成正比, 峰面积与 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量之间的决定系数 R^2 为 0.968 4; 而对于拉曼光谱, 硝酸盐的拉曼峰因受较强干扰导致吸收峰不明显, 峰面积与 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量之间的决定系数 R^2 仅为 0.000 9, 表明中红外衰减全反射光谱可用于土壤中硝酸盐的测定, 而拉曼光谱则很困难。因此, 拉曼光谱和中红外衰减全反射光谱都可用于溶液中硝酸盐的测定, 且前者灵敏度要高于后者; 中红外衰减全反射光谱可用于土壤中硝酸盐的测定, 而拉曼光谱难以用于土壤中硝酸盐定量分析, 这为硝酸盐的快速测定提供理论依据和技术支持。

关键词: 拉曼光谱; 中红外衰减全反射光谱; 硝酸盐; 溶液; 土壤

中图分类号: S132

农业生产中过量氮肥的施用造成大量硝酸盐的累积^[1], 这些硝酸盐进入水体造成地下水硝酸盐含量超标, 水体富营养化, 破坏了水体的生态平衡^[2]。因此, 研究硝酸盐快速检测方法具有重要的意义。通常测定硝酸盐的方法多为比色法, 该方法测定精度高, 但土壤样品需要前处理, 易破坏样品, 且需要化学试剂, 对环境会造成一定程度上的危害。为此, 我们探索了中红外衰减全反射光谱和拉曼光谱在快速测定硝酸盐中的应用。

拉曼光谱与红外光谱产生的原理和机制不同, 但提供的结构信息却是类似的, 都是关于分子内部各种简正振动频率及有关振动能级的情况, 从而可以用来鉴定分子中存在的官能团。分子偶极矩变化是红外光谱产生的原因, 分子振动的极化率则是产生拉曼光谱的原因^[3]。在分子结构分析中, 拉曼光谱与红外光谱是相互补充的^[4]。两种光谱都可以对样品进行快速、简单、无破坏性的测试^[5-6], 硝酸盐在拉曼光谱中拉

曼峰约在 $1\,050\text{ cm}^{-1}$ 附近^[7], 在红外光谱中的吸收峰在 $1\,350\text{ cm}^{-1}$ 左右^[8-10], 这为两种光谱对硝酸盐的测定提供理论基础。已有学者对基于拉曼光谱的溶液中硝酸盐的测定作了研究^[7,11], 而对土壤中的硝酸盐测定则少有研究, 尤其是对中红外衰减全反射光谱和拉曼光谱两种方法测定硝酸盐的特点和适用性还不清楚。

本研究选用中红外衰减全反射光谱和拉曼光谱两种方法测定溶液和土壤中的硝酸盐, 比较两种方法测定的溶液和土壤的光谱特征、分析检测灵敏度, 旨在明确两种方法的优缺点及适用范围, 为硝酸盐的快速测定提供理论基础和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试试剂为分析纯 KNO_3 , 供试土壤为水稻土, 采自中国科学院南京土壤研究所常熟生态实验站。土壤的理化性质如表 1。

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(41130749)资助。

* 通讯作者(chwdu@issas.ac.cn)

作者简介: 邵艳秋(1985—), 女, 山东济宁人, 博士研究生, 主要从事土壤红外光谱的研究。E-mail: yqshao@issas.ac.cn

表 1 水稻土理化性质
Table 1 Physical and chemical properties of tested paddy soil

土壤类型	pH	NH ₄ ⁺ -N (mg/kg)	NO ₃ ⁻ -N (mg/kg)	CaCO ₃ (g/kg)	HCO ₃ ⁻ (g/kg)	有机质 (g/kg)
水稻土	7.09	10.10	4.74	12.30	0.031	41.8

1.2 样品制备

测定的溶液样品为不同浓度的 KNO₃ 溶液 (NO₃⁻-N 浓度为 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 mg/L)。用于测定红外光谱的土壤样品需制成糊状^[10,12-13], 制备方法为: 5 g 风干土加入 3 ml 的 KNO₃ 溶液 (NO₃⁻-N 浓度分别为 0, 20, 40, 80, 120, 160, 200 mg/L); 为便于两种方法的比较, 用于拉曼光谱测定的土壤按照同样的方法制成糊状。

1.3 测定方法

1.3.1 中红外衰减全反射

采用傅里叶变换红外光声光谱仪 Nicolet 6700 (Thermo Fisher Scientific, 美国), DTG 检测器, 衰减全反射附件采用 45°C ZnSe ATR (Bruker, 德国)。光谱扫描均为中红外区域 (800 ~ 4 000 cm⁻¹), 连续进行 32 次扫描重复, 扫描间隔为 4 cm⁻¹, 动镜速率为 0.474 7 cm/s。

1.3.2 拉曼光谱

土壤样品采用激光拉曼 DXR 780 测定, 激发波长为 780 nm, 扫描范围为 50 ~ 3 400 cm⁻¹, 分辨率为 2.4 ~ 4.4 cm⁻¹, 光阑为 25 mm 中缝针孔, 光栅为 400 lines/mm。溶液样品采用 Smart DXR 拉曼光谱仪, 激发波长为 532 nm 激光, 扫描范围为 50 ~ 3 400 cm⁻¹。

1.4 数据处理方法

红外光谱数据由 MatlabR 2009a 自编程序处理, 首先扣除水分的吸收, 并进行光谱过滤 (filtfilt 函数) 去除测定过程中的机器和随机噪音。拉曼光谱数据采用 Peakfit 4.2 软件处理, 首先进行平滑 (FFT Filtering), 然后基线校正 (Auto Fit and Subtract Baseline), 导出数据后再在 Matlab 中作图, 线性回归使用 Excel 2003。

2 结果与讨论

2.1 硝酸钾溶液的拉曼光谱和中红外衰减全反射光谱

KNO₃ 溶液的拉曼光谱和中红外衰减全反射光谱如图 1。从图中可以看出, 两种光谱测定的 KNO₃ 溶液整体的趋势基本上是一致的, 都受水分的影响, 在 2 800 ~ 3 800 cm⁻¹ 和 1 500 ~ 1 800 cm⁻¹ 处为水的吸收峰, 前者是 H-O 的伸缩振动, 后者为 H-O 的弯曲振动^[14]。不同的是, 与红外光谱相比, 拉曼光谱中水的

两个拉曼峰强度相差比较大, 2 800 ~ 3 800 cm⁻¹ 处的峰相对较强, 1 500 ~ 1 800 cm⁻¹ 处的峰相对较弱。另外, 在图 1a 中可以清晰直观地看到硝酸盐的吸收峰的位置在 1 047 cm⁻¹ 处, 对 1 000 ~ 1 100 cm⁻¹ 拉曼光谱进行平滑和基线校正后, 可以清晰直观地看出拉曼峰强度随着 NO₃⁻-N 浓度的增大而增强。而硝酸盐在红外光谱中的吸收峰并不能直观地观察到, 需经扣除水分处理后才可以看到, 硝酸盐的特征吸收区域在 1 200 ~ 1 500 cm⁻¹ 处^[15] (图 1b), 且吸收峰强度随着 NO₃⁻-N 浓度的增大而增强。两种方法所得的特征峰的峰强都与 NO₃⁻-N 含量成正比, 但峰宽和峰高都存在明显的不同。拉曼的特征峰为 1 035 ~ 1 060 cm⁻¹, 峰宽为 25 cm⁻¹, 而红外的特征吸收区为 1 200 ~ 1 500 cm⁻¹, 峰宽为 300 cm⁻¹, 远大于拉曼特征峰的峰宽。光谱峰的宽度与包含的信息的多少有关, 较宽的谱峰包含的光谱信息较多, 即样品分子结构较多, 振动形式多样性, 较窄的峰包含较少的光谱信息, 即样品分子结构较少, 振动形式比较单一。同样浓度的 NO₃⁻-N (200 mg/L), 拉曼峰峰高约为 10.21, 而红外峰则为 10.73 × 10⁻³, 拉曼峰高约是红外峰高的 1 000 倍, 即拉曼光谱对单位浓度或单位量硝酸盐含量的变化所致的响应量变化程度是红外光谱的 1 000 倍, 也就是拉曼光谱的灵敏度^[16]是红外光谱的 1 000 倍。

为了比较两种光谱 NO₃⁻-N 定量分析效果, 对两种光谱与 NO₃⁻-N 的浓度进行线性回归。采用积分法计算特征波段的峰面积, 拉曼光谱的选取积分波数区间为 1 035 ~ 1 060 cm⁻¹, 红外光谱选取积分波数区间为 1 200 ~ 1 500 cm⁻¹, 两种光谱与 NO₃⁻-N 浓度的线性回归结果如图 2。图 2a 为拉曼光谱与 NO₃⁻-N 浓度线性回归关系, 决定系数 R² 为 0.995 4, 相关性极显著, 表明拉曼光谱可以用于溶液中硝酸盐的定量分析。图 4b 为中红外衰减全反射光谱与 NO₃⁻-N 浓度的线性回归关系, 决定系数 R² 为 0.991 1, 与拉曼光谱和 NO₃⁻-N 浓度的线性回归系数相差不大, 可以用于溶液中硝酸盐的测定。

2.2 不同硝酸盐含量土壤的拉曼光谱和红外衰减全反射光谱

水稻土的拉曼光谱如图 3, 从图中可以看出, 土

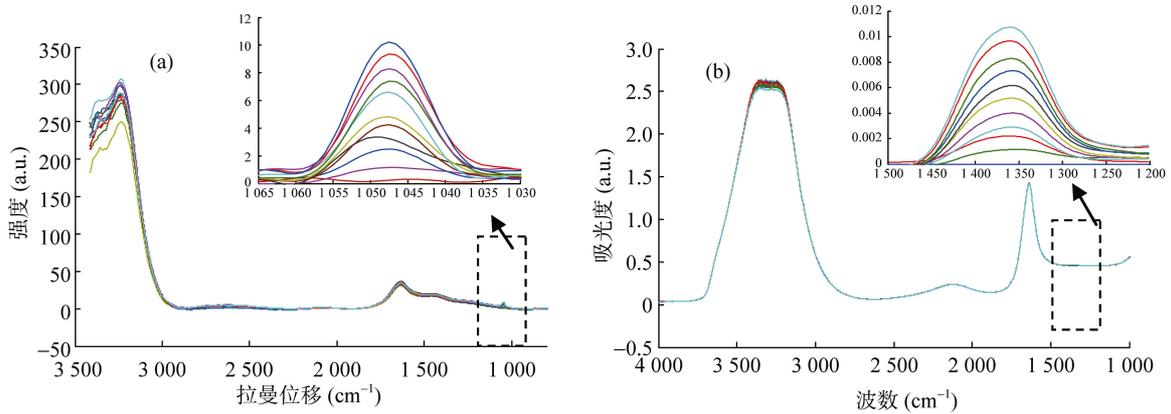


图 1 KNO₃ 溶液的拉曼光谱(a)和红外衰减全反射光谱(b)
 Fig. 1 Raman spectra (a) and Mid-infrared attenuated total reflectance spectra (b) of KNO₃ solutions

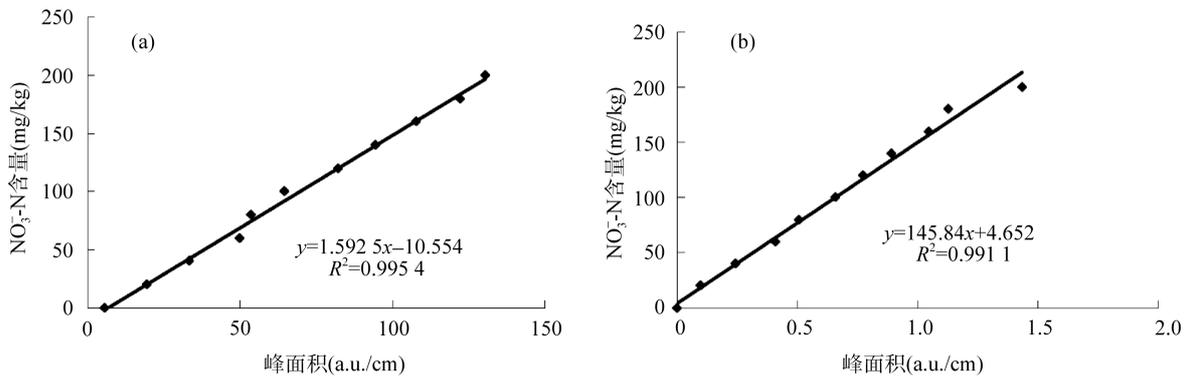


图 2 KNO₃ 溶液的拉曼光谱(a)和中红外衰减全反射光谱(b)与 NO₃-N 含量间的线性回归关系
 Fig. 2 Linear regressions between NO₃-N content and Raman spectra (a) as well as NO₃-N content and mid-infrared attenuated total reflectance spectra (b) in KNO₃ solution

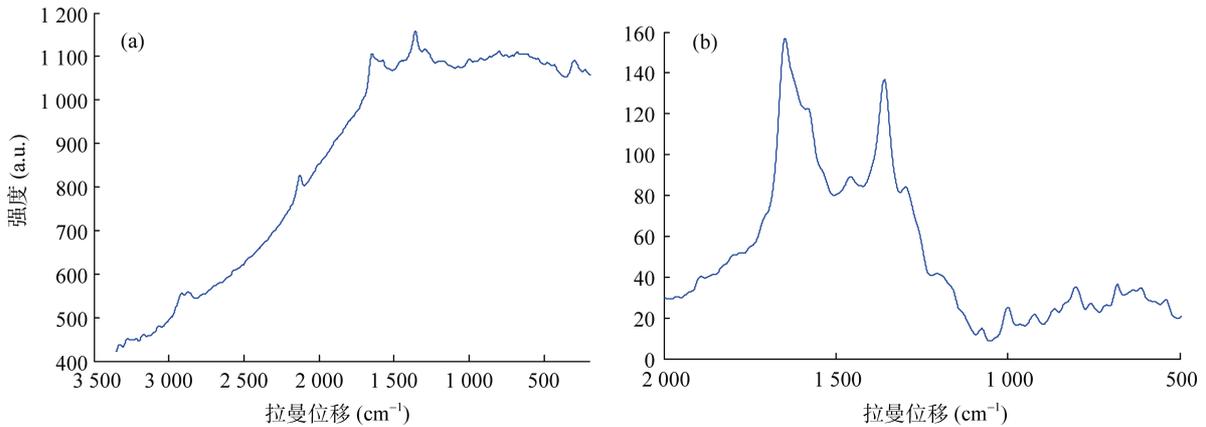


图 3 水稻土的拉曼光谱(a: 原光谱; b: 基线校正后光谱)
 Fig. 3 Raman spectra of tested paddy soil

壤的拉曼光谱出现大的鼓起的包,这主要是土壤中有有机质引起的荧光效应。拉曼光谱测试中荧光干扰问题是目前难以解决的问题之一。由于拉曼散射光极弱,而荧光的强度往往比拉曼散射光强度强得多,土壤中有有机质含量往往比较高,且有机质中通常都存在着大量的不饱和烃,他们在激发光源的照射下会产生极强

的荧光,以致拉曼光谱被荧光所湮灭^[17]。从图中可以看出,水稻土在 1350 cm⁻¹和 1600 cm⁻¹附近有拉曼峰,分别是位于 1350 ~ 1380 cm⁻¹的 D 峰和 1580 ~ 1600 cm⁻¹的 G 峰^[18]。在 1350 cm⁻¹的拉曼光谱是羧基的对称振动产生的,1600 cm⁻¹处的拉曼光谱主要是由于芳香基团羧基的 C=C 键和振动,以

及酚基的 C-O 振动和腐殖酸的酚类振动形成的^[19]。而加入不同浓度 KNO₃ 溶液的土壤的拉曼光谱则有 2 个明显的峰(图 4)，但峰的位置发生改变，分别在 1 300 cm⁻¹ 和 1 420 cm⁻¹ 处，峰的强度变化和加入的 NO₃⁻-N 浓度之间没有明显规律。而在 1 050 cm⁻¹ 附近，硝酸盐具有较小的拉曼峰，但峰的强度随 NO₃⁻-N 浓度变化规律不明显。以峰面积和 NO₃⁻-N 含量作线性回归，决定系数 R² 仅有 0.000 9(图 5)，很明显拉曼光谱难以用于土壤硝酸盐的定量分析。

不同 NO₃⁻-N 含量土壤的红外衰减全反射光谱如图 4，从图中可以看出，与溶液的红外光谱相同的是

在 1 500 cm⁻¹ 和 3 400 cm⁻¹ 附近为水的吸收峰；所不同的是，其在 1 000 cm⁻¹ 左右处有吸收峰，且吸收峰的峰型和吸收强度均不相同，该区域主要是 C-C、C-O 伸缩振动和一些饱和烃类骨架振动，以及一些卤代物和含 P、S 等化学物质的伸缩振动区^[20]，这主要是土壤中的矿物和有机物吸收区。在 1 250 ~ 1 500 cm⁻¹ 处为硝酸盐的特征吸收区，且吸收峰的强度随着 NO₃⁻-N 含量的增大而逐渐增强。同样地，以土壤红外光谱 PCA1 和 NO₃⁻-N 浓度为自变量和因变量进行主成分回归，决定系数 R² 达 0.968 4(图 5)，相关性极显著，表明衰减全反射光谱也可应用于土壤 NO₃⁻-N 的定量分析。

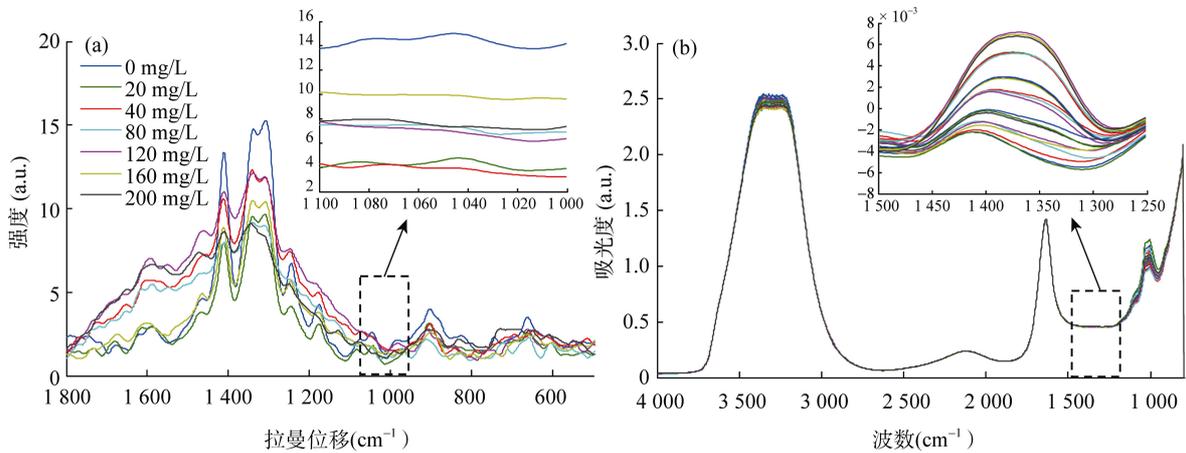


图 4 不同硝酸盐含量的土壤拉曼光谱(a)和中红外衰减全反射光谱(b)

Fig. 4 Raman spectra (a) and mid-infrared attenuated total reflectance spectra (b) of soils with different nitrate contents

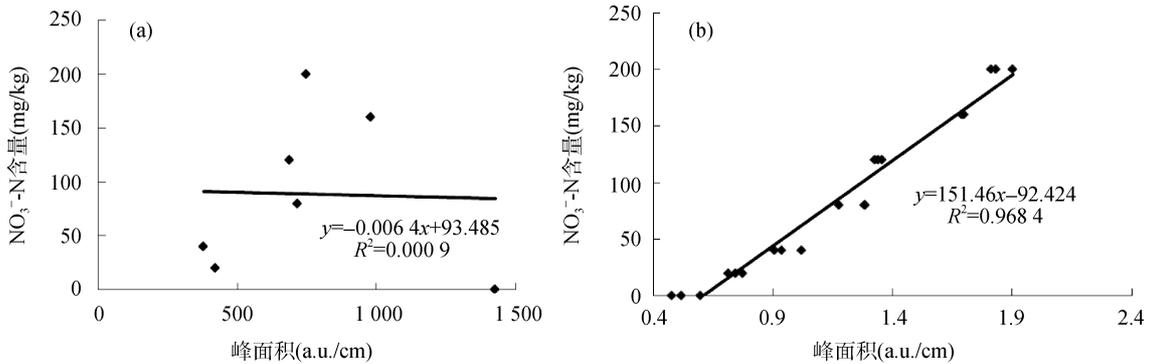


图 5 土壤的拉曼光谱(a)和中红外衰减全反射光谱(b)与 NO₃⁻-N 含量间的线性回归关系

Fig. 5 Linear regressions between NO₃⁻-N content and Raman spectra (a) as well as NO₃⁻-N content and mid-infrared attenuated total reflectance spectra (b) of soil

3 结论

1) 硝酸盐溶液的拉曼特征峰在 1 047 cm⁻¹，峰强度与 NO₃⁻-N 浓度成正比，峰面积与 NO₃⁻-N 浓度线性决定系数 R² 为 0.995 4；在中红外衰减全反射光谱中，硝酸盐特征峰在 1 350 cm⁻¹ 处，在 1 200 ~ 1 500 cm⁻¹ 特征吸收区域，吸收峰与 NO₃⁻-N 含量成正比，峰面积与 NO₃⁻-N 浓度线性决定系数 R² 为 0.995 1。

两种方法的决定系数相差不大，但是拉曼光谱的灵敏度要高于中红外衰减全反射光谱。

2) 加入不同浓度硝酸盐溶液的土壤，红外光谱中硝酸盐的特征吸收区在 1 250 ~ 1 500 cm⁻¹，且吸收峰与 NO₃⁻-N 浓度成正比，峰面积与 NO₃⁻-N 浓度的线性决定系数 R² 为 0.968 4。而拉曼光谱中硝酸盐在 1 047 cm⁻¹ 处的拉曼峰不明显，峰面积与 NO₃⁻-N 浓度线性决定系数 R² 仅为 0.000 9，难以用于土壤中硝酸

盐的定量分析。

参考文献：

- [1] Babiker IS, Mohamed MA, Terao H, Kato K, Ohta K. Assessment of groundwater contamination by nitrate leaching from intensive vegetable cultivation using geographical information system[J]. *Environment International*, 2004, 29(8): 1 009–1 017
- [2] 余海英, 李廷轩, 周健民. 设施土壤盐分的累积、迁移及离子组成变化特征[J]. *植物营养与肥科学报*, 2007, 13(4): 642–650
- [3] 田国辉, 陈亚杰, 冯清茂. 拉曼光谱的发展及应用[J]. *化学工程师*, 2008, 148(1): 34–36
- [4] 常建华, 董绮功. 波谱原理及解析[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 113–118
- [5] 黄红英, 尹齐和. 傅里叶变换衰减全反射红外光谱法(ATR-FTIR)的原理与应用进展[J]. *中山大学研究生学刊(自然科学、医学版)*, 2011, 32(1): 20–31
- [6] 陈柳. 拉曼光谱在水质分析中的应用: 展望及系统设计[J]. *光散射学报*, 2004, 16(2): 184–188
- [7] 叶美芳, 王志海, 唐南安. 盐水溶液中常见阴离子团的激光拉曼光谱定量分析研究[J]. *西北地质*, 2009, 42(3): 120–126
- [8] Shaviv A, Kenny A, Shmulevitch I, Singher L, Raichlin Y, Katzir A. Direct monitoring of soil and water nitrate by FTIR based FEWS or membrane systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(12): 2 807–2 812
- [9] 杨家宝, 杜昌文, 申亚珍, 周健民. 基于傅里叶变换中红外光谱的小白菜硝酸盐含量的快速测定[J]. *分析化学*, 2013, 41(8): 1 264–1 268
- [10] 邵艳秋, 杜昌文, 申亚珍, 马菲, 周健民. 基于中红外衰减全反射光谱的氮同位素标记硝态氮的快速测定[J]. *分析化学*, 2014, 42(5): 747–752
- [11] 陈勇, 周瑶琪, 查明, 王爱国. 实验研究不同盐离子对水分子拉曼效应的影响[J]. *地球化学*, 2008, 37(1): 22–26
- [12] Linker R, Weiner M, Shmulevich I, Shaviv A. Nitrate determination in soil pastes using attenuated total reflectance mid-infrared spectroscopy: Improved accuracy via soil identification[J]. *Biosystems Engineering*, 2006, 94(1): 111–118
- [13] Linker R, Shmulevich I, Kenny A, Shaviv A. Soil identification and chemometrics for direct determination of nitrate in soils using FTIR-ATR mid-infrared spectroscopy[J]. *Chemosphere*, 2005, 61(5): 652–658
- [14] Mernagh T, Wilde A. The use of the laser Raman microprobe for the determination of salinity in fluid inclusions[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1989, 53(4): 765–771
- [15] Du CW, Linker R, Shaviv A, Jianmin Z. In situ evaluation of net nitrification rate in Terra rossa soil using a fourier transform infrared attenuated total reflection ¹⁵N tracing technique[J]. *Applied Spectroscopy*, 2009, 63(10): 1 168–1 173
- [16] MacDougall D, Crummett WB. Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry[J]. *Analytical Chemistry*, 1980, 52: 2 242–2 249
- [17] 何谋春, 张志坚. 显微激光拉曼光谱在矿床学中的应用[J]. *岩矿测试*, 2001, 20(1): 43–47
- [18] 胡凯, 刘英俊. 沉积有机质的拉曼光谱研究[J]. *沉积学报*, 1993, 11(3): 64–70
- [19] Roldán ML, Corrado G, Francioso O, Sánchez-Cortés S. Interaction of soil humic acids with herbicide paraquat analyzed by surface-enhanced Raman scattering and fluorescence spectroscopy on silver plasmonic nanoparticles[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 699(1): 87–95
- [20] 邓晶, 杜昌文, 周健民, 王火焰, 陈小琴. 基于红外衰减全反射光谱的温室土壤盐分特征研究[J]. *土壤学报*, 2009, 46(4): 704–709

Rapid Determination of Nitrate in Solution and Soil Using Raman Spectroscopy and Mid-Infrared Attenuated Total Reflectance Spectroscopy

SHAO Yan-qiu, DU Chang-wen^{*}, SHEN Ya-zhen, MA Fei, ZHOU Jian-min

(State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China)

Abstract: Raman spectroscopy and mid-infrared attenuated total reflection spectroscopy (ATR) were applied to determine nitrate-N content in solution and in soil. The results showed that the characteristic band of nitrate in solution in Raman spectrum was located $1\ 047\ \text{cm}^{-1}$, and the intensity of the band increased with the nitrate nitrogen concentration. The coefficient of determination (R^2) between band area and nitrate-N content was 0.995 4. The characteristic absorption band of nitrate in ATR was in the range of $1\ 200\text{--}1\ 500\ \text{cm}^{-1}$, the absorption band is proportional to nitrate-N content, and the coefficient of determination R^2 between band area and nitrate-N content was 0.991 1. For soil samples, the characteristic absorption band of nitrate by ATR was $1\ 250\text{--}1\ 500\ \text{cm}^{-1}$, the absorption band has a significant positive correlation with nitrate, and the coefficient of determination R^2 between band area and nitrate-N content was 0.968 4. However, the band of nitrate was not obvious by Raman spectroscopy. Therefore, both of two methods could determine nitrate in solution, but the sensitivity of Raman spectroscopy was better than ATR spectroscopy; for soil samples, ATR could be used to predict the nitrate but Raman spectroscopy could not.

Key words: Raman spectroscopy; Mid-infrared attenuated total reflectance spectroscopy ; Nitrate; Solution; Soil