

中红外光声光谱法测定土壤顶空氨气浓度^①

王 娇^{1,2}, 杜昌文^{1*}, 申亚珍¹, 马 菲¹, 周健民¹

(1 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; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要: 利用中红外光声光谱对土壤顶空氨气(NH_3)浓度进行测定。结果表明, 在动镜速率为 0.16 cm/s, 分辨率为 4 cm^{-1} 时获得的 NH_3 光谱噪音较少且信号强度高。利用选定的参数采集不同浓度 NH_3 光谱, 其中位于 900~1 000 cm^{-1} 的特征吸收峰适于定量分析。分别选用该特征吸收的峰高、峰面积和第一主成分与 NH_3 浓度进行回归建模, 线性决定系数(R^2)均达到 0.9 以上, 表明三者都呈显著线性相关, 中红外光声光谱可以用于快速测定土壤顶空中 NH_3 浓度, 这为土壤氮素循环研究提供了新手段。

关键词: 中红外光声光谱; 氨挥发; 土壤顶空; 主成分回归

中图分类号: S152; S158.4

1980 年到 2012 年我国的化肥施用量从 1 269.4 万 t 增加到了 5 704.2 万 t, 其中氮肥施用量从 934.2 万 t 增加到了 2 381.4 万 t, 尿素是使用最广泛的氮肥, 但当季利用率低, 仅为 30% 左右; 尿素施用时可产生 NH_3 挥发, 尤其在碱性土壤和水稻土中, NH_3 挥发更显著, 成为氮素损失的重要途径之一^[1]。氮素利用率低不仅浪费资源与能源, 同时也加剧了温室效应和水体富营养化等环境问题^[2-3]。

国内外针对 NH_3 挥发的测定开展了很多研究。 NH_3 挥发的测定方法可分为原位测定和实验室测定两类^[4]。原位测定的结果更加接近实际情况, 但环境条件不易控制; 实验室测定可以控制各种因素, 但与田间条件存在较大差别, 因此测量结果与实际状况存在一定偏差。目前用于测定 NH_3 的方法主要有气室法、微气象法和风洞法等。气室法是使用最广泛的方法, 其装置一般包括盛放土壤的密闭容器、气流以及捕获 NH_3 的酸溶液, 结构简单易操作, 但测定结果与田间实际情况存在差异^[5-7]。微气象法能够在不干扰田间环境的条件下对 NH_3 挥发量进行测定, 但该方法要求较大的试验面积, 受风速风向影响较大^[8-9]。风洞法要求试验面积小, 试验条件接近田间自然条件, 测定结果可靠, 但对设备要求高, 受相邻田块的交叉干扰大, 使用范围有限^[10-11]。

土壤顶空中气体的组成相对稳定^[12-14], 受大气

环境影响较小, 而主要受土壤本身性质影响, 因此分析土壤顶空中的 NH_3 含量能更好地研究土壤与 NH_3 挥发关系及其影响因素; 但土壤顶空中气体样品量小, 难以满足传统分析方法的要求。随着分析技术的发展, 中红外光声光谱技术的出现为气体的测定提供了新手段, 该技术只需少量样品即可完成测定, 并且无需对样品进行前处理, 具有灵敏度高、测定快速等优势^[15-19]; 因此, 中红外光声光谱为土壤顶空 NH_3 浓度的快速测定提供了可能。

NH_3 分子具有红外活性, 在中红外波数范围(400~4 000 cm^{-1})内可产生 3 个特征吸收峰: 950 cm^{-1} 左右为变角振动产生; 1 630 cm^{-1} 左右为变角振动耦合产生; 3 400 cm^{-1} 左右为伸缩振动以及变角振动耦合产生。本研究将选取和优化测定参数, 构建中红外光声光谱测定土壤顶空 NH_3 浓度的方法, 为研究土壤 NH_3 挥发过程及其影响因素提供新手段。

1 材料与方法

1.1 气体样品

标准 NH_3 样品浓度分别为 11.5、19.6、35.3、58.0、78.0 以及 109 $\mu\text{mol/mol}$, 基质气体为氮气, 由中国计量科学研究院提供。测定中背景气体使用高纯氮气(99.99%), 由南京第五十五技术研究所提供。将大约 2 L 的不同浓度氨气标准气和氮气分别装入真空的特

基金项目: 国家自然科学基金项目(41130749)资助。

* 通讯作者(chwdu@issas.ac.cn)

作者简介: 王娇(1989—), 女, 山东滨州人, 硕士研究生, 主要从事土壤氮素转化过程研究。E-mail: wangjiao@issas.ac.cn

氟龙气体采样袋,密封待测。

1.2 红外光谱的采集

气体的红外光谱采集使用 Nicolet 6700 傅里叶变换红外光谱仪(美国, Therm Fisher), 搭配 PA 101 光声气体分析附件(芬兰, Gasera)。气体采样袋中不同浓度的 NH_3 被泵入光声池, 分别在不同动镜速率和不同分辨率条件下采集光谱。采集过程中使用高纯氮气吹扫, 可有效排除测定过程中水分和 CO_2 对光谱的干扰。

1.3 红外光谱数据处理

对扫描获得的光谱进行小波变换使光谱变得平滑, 从而更好地突出特征吸收峰。在这个过程中, 滤波参数的选择是至关重要的, 如果选择不当会导致去噪不明显或者特征吸收峰消失。根据实验要求, 本实验选择的滤波常数 a 和 b 分别为 0.05 和 2。分别利用峰高、峰面积和主成分与 NH_3 浓度建立线性模型, 利用线性决定系数、预测标准偏差对建立的模型进行评价。数据处理采用 Matlab 软件。

1.4 土壤顶空 NH_3 浓度预测

供试土壤为潮土, 采自中国科学院封丘生态实验站, 风干后过 2 mm 筛。在 2 L 无盖圆柱形容器中装入 1 kg 土壤, 称取 0.43 g 尿素溶于 200 ml 的蒸馏水,

从上部加入土壤, 重复 4 次。准备相同的 4 个土壤, 只加入等量的蒸馏水。所有 8 个土壤全部置于 20 °C 的恒温培养箱中培养 15 天, 每天下午 2 点在土壤表面采集气体样本进行光谱扫描。第 8 天所有处理补充 100 ml 蒸馏水。

2 结果与讨论

2.1 红外光谱预处理

图 1 为 NH_3 原始红外光声光谱图和经过小波变换的光谱图。从图中可以看到, 平滑处理可去除光谱中的高频噪声, 吸收峰的位置可以清晰辨认。在光谱采集过程中, 由于仪器的测量灵敏度高, 环境和仪器产生的噪声在一定程度上会干扰样品的信号, 尤其是强度较弱的信号, 通过对光谱数据进行平滑等预处理, 能够使样品产生的信号更加容易识别, 提高定性或定量分析的准确度。

从图 1b 中可以观测到 NH_3 的 3 个特征吸收区, 由于水气中羟基在 $3\,500\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,600\text{ cm}^{-1}$ 左右分别存在较强的伸缩振动和弯曲振动, 因此 NH_3 位于 $3\,400\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,630\text{ cm}^{-1}$ 左右的特征吸收受水气影响较大。

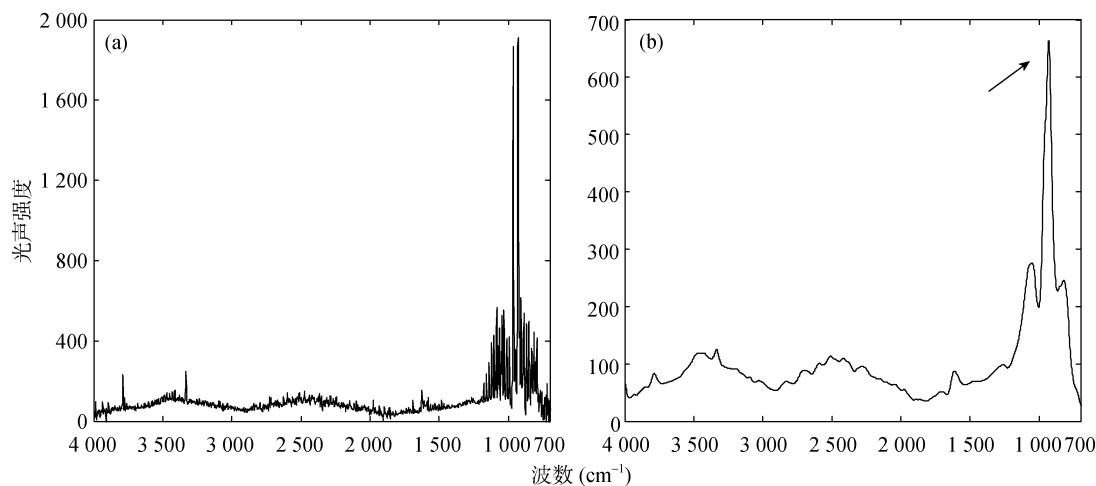


图 1 NH_3 的红外光声光谱图(a: 原始光谱; b: 平滑后的光谱)

Fig. 1 Infrared photoacoustic spectra of NH_3

2.2 红外光谱采集参数优化

动镜速率决定了不同波数的红外光调制频率, 同时影响红外光谱的信噪比。红外光的调制频率可以改变样品的热扩散深度, 通过改变仪器的动镜速率(或调制频率)可以对样品进行逐层扫描和结构分析。红外光谱的信噪比(SNR)与时间 t 的平方根呈正比, 动镜速率对信噪比的影响归于测量时间 t 的这个因素里, 扫描速度越慢, 所需要的时间越长, 因此红外光谱的信噪比越高。对于气体样品, 由于其在光声

池中是均匀分布的, 动镜速率主要影响红外光谱的信噪比。

图 2 显示了不同动镜速率下 NH_3 的中红外光声光谱, 可以看出, 光谱 a 几乎没有噪声, 而随着动镜速率的增大, 大于 $2\,000\text{ cm}^{-1}$ 的波数范围内噪声明显增强。在分辨率和扫描次数相同的情况下, 动镜速率增加 1 倍, 扫描时间相应减少一半, 信噪比降低 1.4 倍, 因此光谱 a 的信噪比分别是光谱 b、c、d 的 1.4 倍、1.7 倍和 2 倍。因此, 在本研究中, 为了更加准

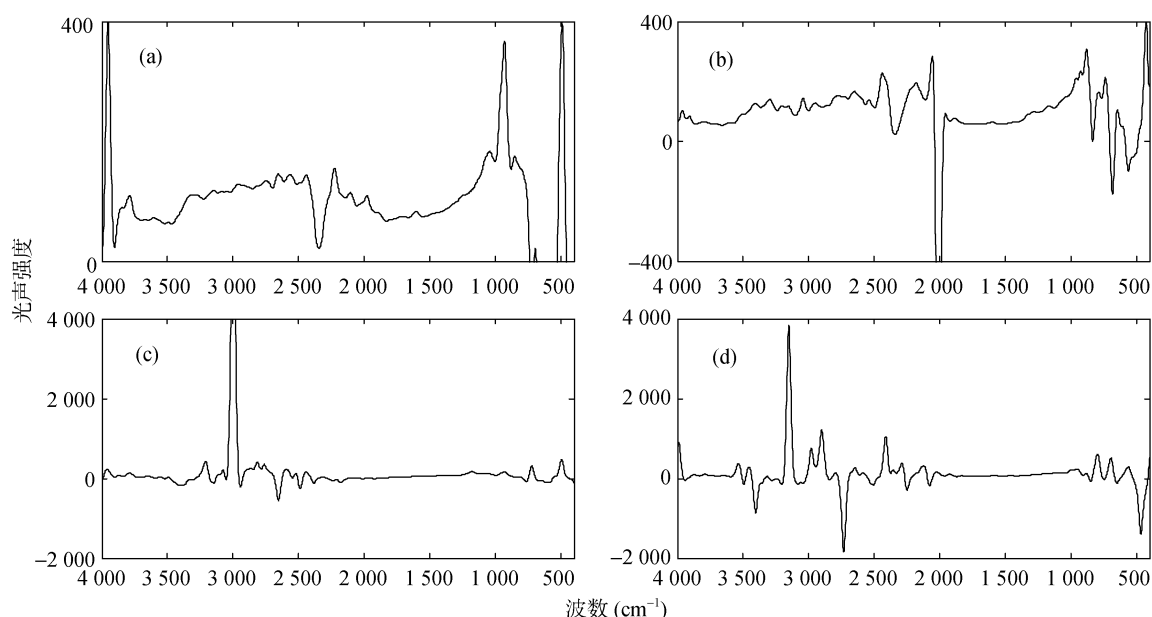


图2 不同动镜速率下的 NH_3 红外光谱(a: 0.16 cm/s ; b: 0.32 cm/s ; c: 0.47 cm/s ; d: 0.63 cm/s)

Fig. 2 Spectra of NH_3 with different moving mirror velocities

确地对 NH_3 红外光谱进行特征分析, 选用 0.16 cm/s 的动镜速率对标准气体进行光谱采集。

分辨率是指分辨两条相邻谱线的能力, 是由干涉仪动镜移动的距离决定的, 一台傅里叶变换红外光谱仪动镜移动最长有效距离两倍的倒数, 也就是最大光程差的倒数即为这台仪器的最高分辨率。分辨率数值越小, 分辨率越高, 仪器的性能越好。每台傅里叶变换红外光谱仪都设定有不同档次的分辨率, 但是一般情况下采集光谱时很少使用高的分辨率。一方面, 提高仪器的分辨率会增加采集光谱的数据点, 在动镜速率和扫描次数一定的条件下, 使用高分辨率会大大延长测量时间; 另一方面, 信噪比与分辨率是呈反比的, 当其他测量条件一致时, 分辨率越高, 光谱的信噪比越低。

本实验分别使用 1 、 2 和 4 cm^{-1} 分辨率对浓度为 $109 \mu\text{mol/mol}$ 的氨气进行光谱采集。动镜速率为 $0.16 \text{ cm}^{-1}/\text{s}$, 扫描次数为 32 次, 结果见图 3。从图中可以看出, 降低分辨率可以明显提高光谱的信噪比。当分辨率为 1 cm^{-1} 时, 由于噪声强度太大, NH_3 的特征吸收峰不能明显地辨认出来; 而当分辨率变为 2 cm^{-1} 时, 光谱变得平滑, 而且能够比较清晰地辨认出 $900 \sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ 的特征吸收峰; 在分辨率为 4 cm^{-1} 的条件下扫描得到的光谱特征吸收峰更加得突出。当分辨率为 4 cm^{-1} 时, 扫描获得到的光谱已经包含了分析所需的信息, 而且用时大大减少。研究表明多种物质的红外光谱测定都选用了 4 cm^{-1} 作为分辨率^[20], 因此本实验选择 4 cm^{-1} 作为 NH_3 红外光谱扫描的分辨率。

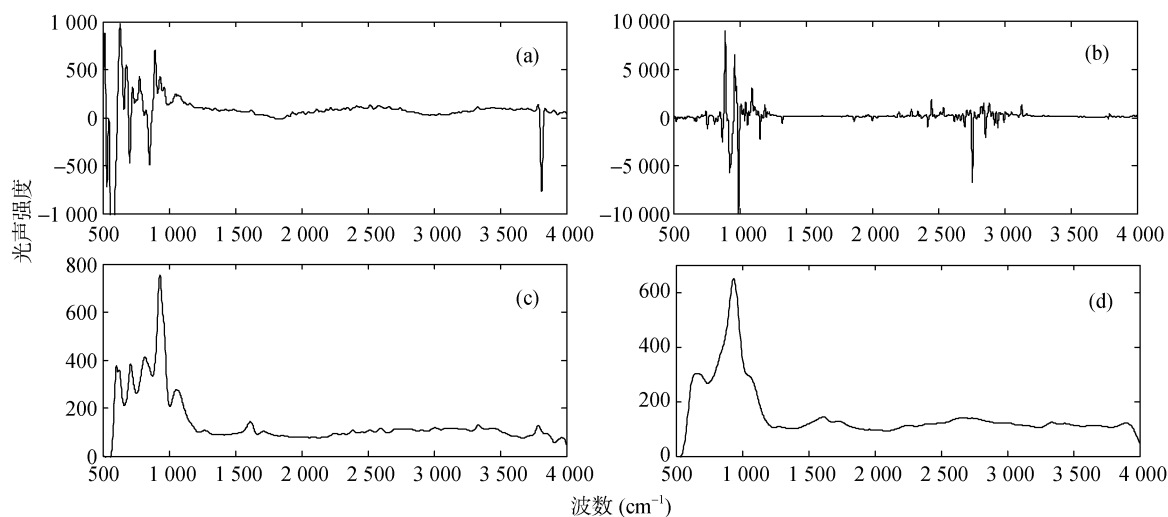


图3 不同分辨率的 NH_3 红外光谱(a: 1 cm^{-1} ; b: 2 cm^{-1} ; c: 4 cm^{-1} ; d: 8 cm^{-1})

Fig. 3 Spectra of NH_3 with different resolutions

2.3 氨气浓度的定量分析

从 NH_3 红外光谱中可以看到,由于环境噪音的影响, NH_3 在 $1\,630\text{ cm}^{-1}$ 和 $3\,400\text{ cm}^{-1}$ 左右的吸收峰无法得到辨认,但在 $900 \sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 之间的吸收峰强度很高。图 4 显示了采用同一扫描参数采集并进行小波变换的 4 个不同浓度 NH_3 红外光谱。通过对比 4 个浓度 NH_3 产生的红外光谱,可以看到不同光谱中最强的吸

收峰均产生在 $900 \sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 波数,而且不同浓度 NH_3 光谱的信号强度存在差异。从放大的图中可以看到,不同浓度的 NH_3 在 $920 \sim 990\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内产生的光声信号强度随着浓度的升高而增强。为了建立光谱与 NH_3 浓度之间的定量关系,本研究对这个吸收峰进行了不同方式的计算,分别使用峰高、峰面积和主成分与浓度作为自变量和因变量建立回归模型。

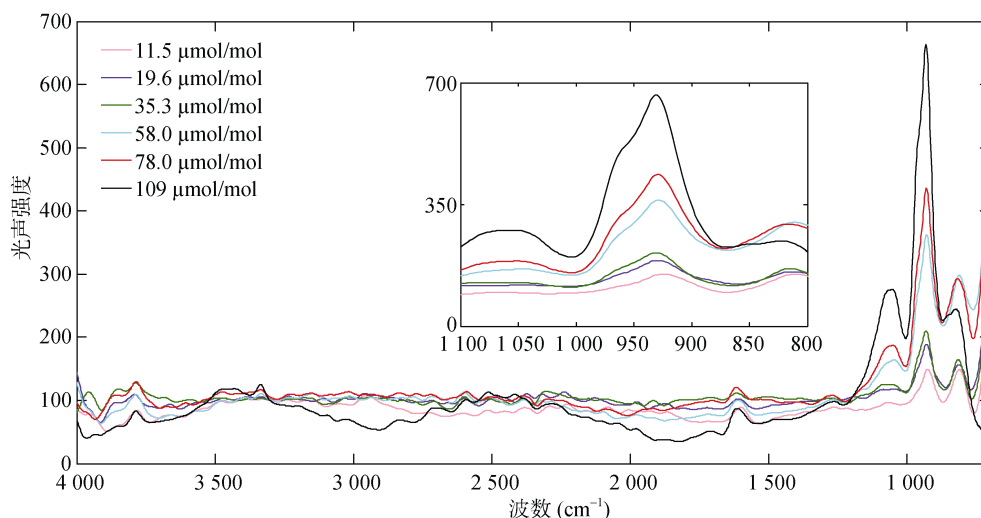


图 4 不同浓度 NH_3 红外光谱

Fig. 4 Spectra of NH_3 with different concentrations

模型的优劣需要通过不同参数来进行评价,根据研究目的和研究对象,本研究采用的模型评价参数为线性决定系数(R^2)和预测标准偏差($RMSE$)。 R^2 是线性相关系数的平方,用于判定两个变量之间的线性相关关系。 R^2 越接近于 1,说明变量间线性关系越好,模型的预测结果越好。 $RMSE$ 是衡量预测结果与实际测量结果差异的一项指标,其数值越小越好,但不可过小,否则会出现过度拟合的情况。本研究分别用这两个评价参数对由不同自变量建立的模型进行评价。

峰高即最大信号值,在图 4 中可以看出, NH_3 红外光谱的最大信号值均出现在 930 cm^{-1} 处, NH_3 浓度与其在 930 cm^{-1} 的光声信号值之间的关系如图 5a。从图中可以看到, NH_3 浓度与峰高呈正相关关系。进一步对二者做线性回归, R^2 达到了 0.947 4,相关性显著。

峰面积也是用于光谱定量分析的方法之一。测量峰面积的方法有多种,对于形状规则的吸收峰,利用峰高和峰宽等参数即可计算得到,而对于不规则的吸收峰来说,用微分的方法可以得到。本研究中 NH_3 光谱是在数据间隔为 1.93 cm^{-1} 扫描得到,即每隔 1.93 cm^{-1} 产生一个对应的光声强度值,该数值与每一个光声强度值的乘积可以代表对应单元的面积,

将 $920 \sim 990\text{ cm}^{-1}$ 之间每个单元的面积累加即为峰面积。通过这个方法得到的不同浓度 NH_3 相对应峰面积值与 NH_3 浓度的对应关系如图 5b。从图中可以看到, NH_3 浓度与其光谱峰面积呈正相关关系,线性回归的 R^2 为 0.965 1,说明相关性显著。

光谱中包含很多变量,各变量之间可能存在一定相关性,而且这些变量不能被直接利用。主成分分析通过对原始数据的变换产生一组新变量,这些新的变量之间是互相独立的,并且都是原始变量的线性融合。根据新变量所携带的信息量大小,由大到小分别被称为第一主成分、第二主成分、第三主成分……新变量与原始变量的数量是相等的,但通常样品的信息都集中在前几个主成分中,很多情况下仅第一主成分就包含了原始数据中 80% 的信息量,因此选用少数几个主成分作为新变量进行分析,可以大大简化光谱分析工作。对由 4 个不同浓度 NH_3 光谱数据组成的矩阵进行主成分分析,得到各个主成分及其贡献率,前 2 个主成分的贡献率分别为 99.46% 和 0.42%。因此在本研究中,只需要选取第一主成分进行回归分析。利用 NH_3 及其对应的第一主成分所作的线性关系图,如图 5c,图中显示出 NH_3 的浓度与第一主成分的 R^2 为 0.949 4,呈显著线性相关,因此对特征吸收范围

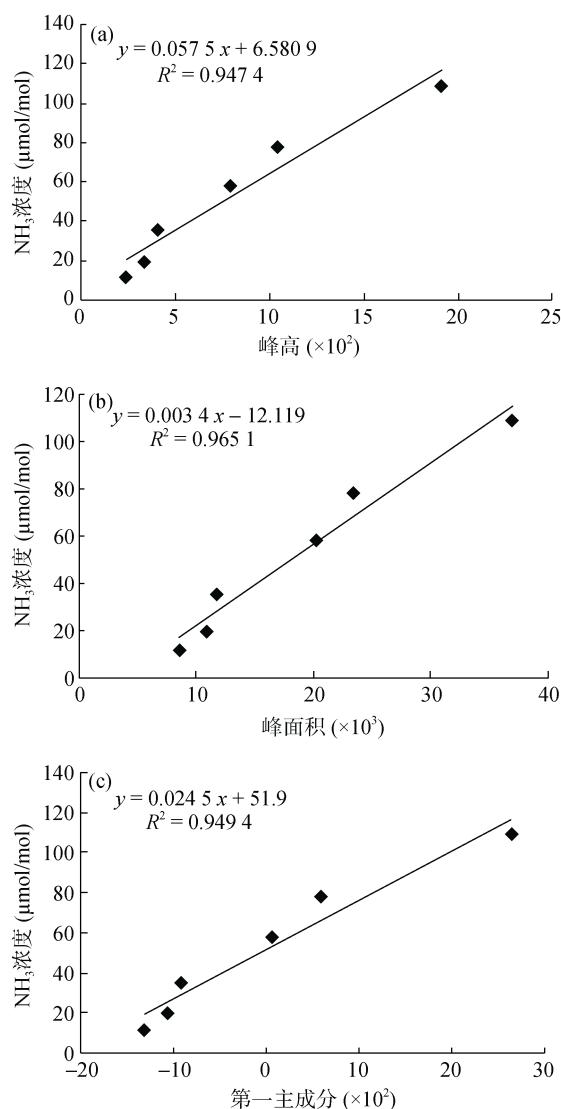


图5 峰高、峰面积和主成分与 NH_3 浓度的关系
(a: 峰高法; b: 峰面积法; c: 主成分法)

Fig. 5 Band height, band area and PCA1 versus NH_3 concentration

内的光谱数据进行主成分分析也可以用来预测 NH_3 浓度。

线性回归模型的 R^2 越接近 1, $RMSE$ 越小, 说明模型的效果越好。利用 3 种方式建立 NH_3 浓度预测模型的 R^2 分别为 0.947 4、0.965 1 和 0.949 4, $RMSE$ 分别为 8.54、6.99 和 8.37 $\mu\text{mol/mol}$, 其线性回归模型的 R^2 都在 0.9 以上, 表明线性相关程度都非常高。峰面积包含更丰富的信息, 模型拟合程度更好, 但三者间差异不大。由于峰高和峰面积常用于峰形比较规则的光谱, 因此, 建立土壤顶空 NH_3 浓度预测模型时, 采用主成分回归建模比较适合。

2.4 土壤顶空 NH_3 浓度预测

对标准 NH_3 光谱和土壤顶空气体光谱进行主成分分析, 利用标准气体建立的模型对土壤顶空 NH_3

浓度进行预测, 可以得到培养过程中每天土壤顶空的 NH_3 浓度及其变化趋势如图 6。从图中可以看出, 在尿素加入土壤后, 顶空 NH_3 浓度迅速增加, 第 3 天达到最大值后开始减少, 尿素加入土壤引起 NH_3 挥发量增加, 一方面是由于尿素在土壤中转化为 NH_4^+ 进而变为 NH_3 产生挥发, 另一方面是由于尿素的加入引起了激发效应, 使土壤有机氮转化为无机氮而引起 NH_3 挥发。而不施加肥料的土壤顶空 NH_3 浓度在培养的第 3 天开始显著增加, 这是因为水分的加入使微生物活性增强, 土壤部分有机氮转变为无机氮产生 NH_3 气态损失。培养后期两个处理的土壤 NH_3 挥发量均有少量增加, 这可能是后期补水引起的。

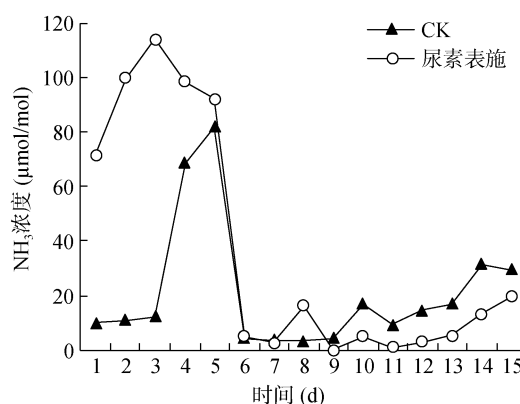


图6 施肥后土壤顶空 NH_3 浓度

Fig. 6 Concentration changes of NH_3 in soil headspace after fertilization

3 结论

NH_3 作为一种具有红外活性的气体, 在中红外波数范围内有 3 个特征吸收峰, 因此可以利用中红外光声光谱对 NH_3 进行定性和定量分析。 NH_3 光声光谱采集参数的选择对光谱的质量有直接影响, 动镜速率越大, 分辨率越高, 光谱的信噪比越低。位于 $900 \sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内的吸收峰强度最大, 因此可以用作定量分析。分别利用该吸收峰的峰高、峰面积和第一主成分与浓度建立线性回归模型, 得到的线性判定系数 R^2 分别为 0.947 4、0.965 1、0.949 4, 均呈显著相关关系, 而预测标准偏差 $RMSE$ 分别为 8.54、6.99、8.37 $\mu\text{mol/mol}$, 因此选用 3 种方法建立模型差异不大。利用主成分回归建模对土壤顶空 NH_3 浓度进行预测, 得到了培养过程中不同时间土壤顶空的 NH_3 浓度。尿素施入土壤后会引引起顶空 NH_3 浓度的迅速升高, 相应的引起 NH_3 挥发量显著增加。中红外光声光谱技术结合多元回归分析实现了对土壤顶空 NH_3 浓度的快速测定, 为土壤氮素循环的研究提

供了新的手段。

参考文献：

- [1] Hargrove W, Kissel D. Ammonia volatilization from surface applications of urea in the field and laboratory[J]. Soil Science Society of America Journal, 1979, 43(2): 359–363
- [2] 吕殿青, 同延安, 孙本华, OveEmteryd. 氮肥施用对环境 污染影响的研究[J]. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(1): 8–15
- [3] 朱兆良. 农田中氮肥的损失与对策. 土壤与环境, 2000, 9(1): 1–6
- [4] Woodward TR, Frame WH, Alley MM, Whitehurst GB, Whitehurst BM. Design and validation of a laboratory system for measurement of volatilized ammonia[J]. Agronomy Journal, 2011, 103(1): 38–44
- [5] Fenn L, Kissel D. Ammonia volatilization from surface applications of ammonium compounds on calcareous soils: I. General theory[J]. Soil Science Society of America Journal, 1973, 37(6): 855–859
- [6] Ndegwa PM, Vaddella VK, Hristov AV, Joo HS. Measuring concentrations of ammonia in ambient air or exhaust air stream using acid traps[J]. Journal of Environmental Quality, 2009, 38(2): 647–653
- [7] Rochette P, Angers DA, Chantigny MH, MacDonald JD, Bissonnette N, Bertrand N. Ammonia volatilization following surface application of urea to tilled and no-till soils: A laboratory comparison[J]. Soil and Tillage Research, 2009, 103(2): 310–315
- [8] Sutton M, Nemitz E, Milford C, Fowler D, Moreno J, Jose RS, Wyers JP, Otjes RP, Harrison R, Husted S, Schjoerring JK. Micrometeorological measurements of net ammonia fluxes over oilseed rape during two vegetation periods[J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2000, 105(4): 351–369
- [9] Spirig C, Flechard C, Ammann C, Neftel A. The annual ammonia budget of fertilised cut grassland—Part 1: Micro-meteorological flux measurements and emissions after slurry application[J]. Biogeosciences, 2010, 7(2): 521–536
- [10] Loubet B, Cellier P, Flura D, Flura D. An evaluation of the wind-tunnel technique for estimating ammonia volatilization from land: Part 1. Analysis and improvement of accuracy[J]. Journal of Agricultural Engineering Research, 1999, 72(1): 71–81
- [11] 黄彬香, 苏芳, 丁新泉, 胡小康, 高志岭, 陈新平, 张福锁, Kogge Martin, Romheld Volker. 田间土壤氮挥发的原位测定——风洞法[J]. 土壤, 2006, 38(6): 712–716
- [12] Voice TC, Kolb B. Static and dynamic headspace analysis of volatile organic compounds in soils[J]. Environmental Science & Technology, 1993, 27(4): 709–713
- [13] Alvarado JS, Rose C. Static headspace analysis of volatile organic compounds in soil and vegetation samples for site characterization[J]. Talanta, 2004, 62(1): 17–23
- [14] Hakkarainen M. Developments in multiple headspace extraction[J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2007, 70(2): 229–233
- [15] Schilt S, Thévenaz L, Niklès M, Emmenegger L, Huglin C. Ammonia monitoring at trace level using photoacoustic spectroscopy in industrial and environmental applications[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2004, 60(14): 3 259–3 268
- [16] Huszár H, Pogány A, Bozóki Z, Mohácsi A, Horváth L, Szabo G. Ammonia monitoring at ppb level using photoacoustic spectroscopy for environmental application[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2008, 134(2): 1 027–1 033
- [17] Du C, Zhou J, Wang H, Chen X, Zhu A, Zhang J. Determination of soil properties using Fourier transform mid-infrared photoacoustic spectroscopy[J]. Vibrational Spectroscopy, 2009, 49(1): 32–37
- [18] Wynn CM, Palmacci S, Clark M, Kunz RR. Dynamic photoacoustic spectroscopy for trace gas detection[J]. Applied Physics Letters, 2012, 101(18): 184–103
- [19] Owen KE, Farooq A. Measurements of NH_3 linewidths and collisional broadening coefficients in N_2 , O_2 , CO_2 , and H_2O near 1103.46 cm^{-1} [J]. Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer, 2013, 121: 56–68
- [20] 翁诗甫. 傅里叶变换红外光谱分析[M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2010: 62–65

Measurement of Ammonia in Soil Headspace by Mid-infrared Photoacoustic Spectroscopy

WANG Jiao^{1,2}, DU Chang-wen^{1*}, SHEN Ya-zhen¹, MA Fei¹, ZHOU Jian-min¹

(1 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences)*, Nanjing 210008, China; 2 *University of Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100049, China)

Abstract: Mid-infrared spectroscopy was used to measure the concentration of ammonia (NH₃) in soil headspace. The result showed that a spectrum with stronger signal and less noise could be got when using the mirror velocity of 0.16 cm/s and the resolution of 4 cm⁻¹. The spectra of NH₃ of different concentrations were obtained with the selected parameters, and the absorption peak within 900–1 000 cm⁻¹ was appropriate for quantitative analysis. Linear regression models were established between NH₃ concentrations and peak height, peak area and the first principle respectively, and the corresponding decision coefficients (R^2) were greater than 0.9, indicating that all of them had significant linear correlation with NH₃ concentration. The concentration of NH₃ in soil headspace could be predicted quickly using mid-infrared spectroscopy combined with principal component regression.

Key words: Mid-infrared spectroscopy, NH₃ volatilization, Soil headspace, Principal component regression