

土壤溶解性有机碳四种测定方法的对比和转换^①

盛浩¹, 宋迪思¹, 王翠红¹, 周萍², 张杨珠¹

(1 湖南农业大学资源环境学院, 长沙 410128; 2 亚热带农业生态过程重点实验室(中国科学院亚热带农业生态研究所), 长沙 410125)

摘要: 针对土壤溶解性有机碳(DOC)不同测定方法之间可比性较差的问题, 应用 TOC 仪法、容量法、紫外分光光度法和比色法分别测定了中亚热带丘陵山地 6 个土属共 46 个新鲜土壤样品的 DOC 含量。结果表明: 参照 TOC 仪法测得的 DOC 数据, 容量法一致性地低估 20%~67%; 比色法测定 DOC 含量较低的底土时(<200 mg/kg)仅低估 7%~27%, 但在分析 DOC 含量较高的表土(>600 mg/kg)时最不敏感, 低估达 53%~93%; 紫外分光光度法在 DOC 含量较高时也存在一定的低估, 但在 DOC 含量较低时高估 65%~189%。4 种方法测得的 DOC 数据均呈极显著正相关关系($P<0.01$)。统计分析获得的线性或指数方程可应用于将容量法、紫外分光光度法和比色法的测定结果向 TOC 仪法的数据转换, 而且有必要针对表土和底土使用不同的转换方程或参数, 这些经验转换方程的建立有助于增强不同研究结果之间 DOC 数据的可比性, 也有利于推动土壤 DOC 测定标准的完善。

关键词: 活性有机碳; 山地土壤; 底土; TOC 仪法; 容量法; 比色法; 紫外分光光度法

中图分类号: S153; X142

土壤溶解性有机碳(DOC)指溶于水或稀盐、能通过 0.45 μm 孔径滤膜、结构不均一的简单小分子到复杂有机碳聚合物的连续体^[1]。DOC 性状活泼, 参与土壤发生和剖面发育^[2], 也是土壤肥力和环境健康变化的“指示器”^[3-4]。DOC 作为一个操作上的定义, 目前国内外仍无一致的测定标准和规程, 不同研究结果的可比性较差^[5]。在前处理上, 就存在样品(鲜样、风/烘干样)、浸提液(蒸馏水、稀 CaCl_2 、 KCl 和 K_2SO_4 盐溶液或热水)、水土比、温度、浸提时间和方法的差异^[6-7]; 在滤液中碳的测定方法上, 有高温干烧-红外气体分析仪测定法、重铬酸钾-浓硫酸外加热容量法(湿氧化法)、分光光度计比色法和紫外分光光度法^[8]。这些碳的测定方法各具优缺点, 以商业化的总有机碳分析仪(TOC 仪)测得的回收率最高, 但 TOC 仪价格昂贵, 测定时间偏长; 容量法的成本低, 却操作繁琐; 紫外分光光度法和比色法速度快, 但均为间接方法, 也容易受干扰离子的影响^[9-11]。已有个别研究基于少量土壤类型和样本, 对比了不同方法测定的土壤 DOC 含量的差异, 但尚未系统建立不同测定方法的转换标准^[12-13]。随着 DOC 研究的不断增加, 不同方法测定的 DOC 数据量不断增长, 为增强不同研究结果之间 DOC 数据的可比性, 有必要建立多种方

法的转换关系。

我国亚热带山区面积广大, 民间素有“八山一水一分田”之说。本区域地形复杂, 母质/母岩类型多样, 土壤多样性高^[14]。本研究通过选择亚热带湘东山区典型土壤类型, 采集土壤样品深至母岩/母质层, 分别应用 TOC 仪法、容量法、紫外分光光度法和比色法测定表土(A 层)和底土(A 层以下)的 DOC 含量, 对比不同方法测得 DOC 数据的差异, 开发不同方法测得的 DOC 数据的经验转换方程, 以期建立快速精确的土壤 DOC 测定标准和增强不同 DOC 研究结果的可比性提供参考和科学依据。

1 材料与方

1.1 土壤样品采集

选择亚热带湘东中、低山和丘陵地带的典型土壤, 按湖南省第二次土壤普查分类方案, 所选土壤类型涉及第四纪红土红壤、酸性紫色土、花岗岩红壤、花岗岩黄壤、花岗岩暗黄棕壤和花岗岩山地灌丛草甸土的 6 个土属^[15], 共 46 个土壤样品, 其中 17 个样品采自表土(A 层), 29 个样品采自底土(A 层以下)。土壤样品均采自湖南省长沙县和浏阳市辖区。选择当地典型地形部位, 挖掘土壤主剖面 1~2 个, 按剖面

基金项目: 国家自然科学基金项目(41571234、31100381)和湖南省自然科学基金项目(13JJ4066)资助。

作者简介: 盛浩(1982—), 男, 湖南长沙人, 博士, 副教授, 主要从事土壤资源利用与环境研究。E-mail: shenghao82@hunau.edu.cn

形态划分发生层次,分别采集各发生层样品,深至母岩/母质层。

1.2 土壤样品分析

采集的新鲜土样立即带回室内,挑除小石块、可见植物根系和残体等土壤异物,过 2 mm 孔径的尼龙筛,混匀后密封,置于 4℃ 冰箱中避光保存备用。土壤 DOC 测定的前处理主要参考 Bolan 等^[12]方法,即:称取过 2 mm 筛鲜土样 25.00 g 置入 200 ml 塑料瓶中,加入 100 ml 0.5 mol/L 硫酸钾溶液,于往复振荡器上振荡 30 min(280 r/min),土壤浸提液转入离心管离心 20 min(4 000 r/min),离心后清液通过真空抽滤过 0.45 μm 微孔滤膜。滤液中的碳采用以下 4 种方法分别测定:

1) 直接送入 TOC 自动分析仪(Phoenix 8000, Teledyne Tekmar 公司,美国),采用不可吹扫有机碳(NPOC)模式检测。上机前,先用 7.2% 的磷酸溶液对样品进行酸化处理,曝气时间 2 min,去除无机碳;样品加热至 80℃,在 20 g/L 的过硫酸钾和紫外光共同作用下,将有机碳氧化成 CO₂,以纯 N₂ 为载气,流速 200 ml/min,送入非分散红外检测器检测 CO₂ 浓度,分析精度 ±2%,3 次重复测试,测定时间 15 min。

2) 采用重铬酸钾-硫酸外加热容量法测定。主要参考李振高^[16]的操作流程,即:吸取 10 ml 滤液加入 150 ml 体积的定制硬质消化管,加入 10 ml 0.108 0 1/6 mol/L K₂Cr₂O₇-15.7 mol/L 1/2H₂SO₄ 混合溶液,再加入适量玻璃珠以防爆沸,摇匀后置于 170~180℃ 控温油浴锅沸腾 5 min,以邻啡罗啉作指示剂,用 0.05 mol/L 硫酸亚铁标准溶液滴定。

3) 采用紫外分光光度法测定。主要参考 Deflandre 和 Fafne^[17]和罗小三等^[11]的步骤,即:按 TOC 仪法测得的 DOC 浓度值,将溶液浓度稀释至 5~15 mg/L 范围内,用紫外分光光度计(UV 1101,天美科学仪器有限公司,上海)测定 254 nm 处吸收值。通过建立 254 nm 处吸收值与部分样品 TOC 仪法测得的 DOC 浓度的回归方程,应用 254 nm 处吸收值估算 DOC 浓度。

4) 采用比色法测定。主要参考 Bartlett 和 Ross^[18]、占新华和周立祥^[9]和 Doyle 等^[19]的描述,略作改进,即:在 20 ml 试管中,加入待测液 5~10 ml(使有机碳含量在 0~25 mg 范围),如不足 10 ml,则加水至 10 ml,然后加 5 ml 10 mmol/L 的 Mn(III)-焦磷酸和 5 ml 浓 H₂SO₄,摇匀,静置 1 h 后,于 500 nm 处比色。采用 100 mg/L 的草酸溶液制作标准曲线。

1.3 数据处理和分析

所有变量的描述性分析均在 Excel 2013 软件平台下实现。基于 SPSS 13.0 软件平台进行 4 种方法测得 DOC 含量的回归分析,采用协方差分析法比较回归直线和曲线的差异,差异显著性水平设为 $P < 0.05$,极显著水平设为 $P < 0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 不同方法测得土壤 DOC 数据的对比

TOC 仪法测得的土壤 DOC 含量明显高于其他 3 种方法,且数据离散度最高,样本极差和标准差最大,变异系数(CV)高达 167%(表 1)。这反映出 TOC 仪法在测定土壤 DOC 含量时最为敏感,稳定性高、重复性好^[12-13]。

表 1 不同方法测定土壤 DOC 含量(mg/kg)的描述性统计分析

Table 1 The descriptive statistics of soil DOC data from TOC analyzer, volumetry, UV absorption and colorimetric methods

测定方法	最大值	最小值	平均值	标准偏差	极差	变异系数(%)
TOC 仪法	6 308.0	57.0	609.0	1 018.2	6 251.0	167
容量法	3 441.3	28.8	348.1	554.9	3 412.5	159
紫外分光光度法	1 206.4	160.1	455.2	322.4	1 046.3	71
比色法	416.6	44.6	235.0	96.4	372.0	41
容量法绝对差异 ^{a)}	2 866.7	28.2	260.9	-	-	-
紫外分光光度法绝对差异 ^{a)}	5 101.6	-103.1	153.8	-	-	-
比色法绝对差异 ^{a)}	5 891.4	12.5	374.0	-	-	-
容量法相对差异(%) ^{b)}	45.4	49.4	42.8	-	-	-
紫外分光光度法相对差异(%) ^{b)}	80.9	-180.8	25.3	-	-	-
比色法相对差异(%) ^{b)}	93.4	21.9	61.4	-	-	-

注:a)容量法、紫外分光光度法或比色法与 TOC 仪法的差值;b)绝对差异值/TOC 仪法的值×100;“-”为未计算。

相对于 TOC 仪法，容量法测得的土壤 DOC 含量的绝对差异介于 28.2 ~ 2866.7 mg/kg，平均值的相对差异为 42.8%(表 1)。容量法测得数据的 CV 值和 TOC 仪法接近。虽然同为直接方法，但容量法测得的 DOC 数据一致性偏低，可能与样品中碳的不完全氧化或溶液中干扰离子的影响有关。据报道，容量法测定土壤胡敏酸的有机碳含量也明显低于 TOC 仪法，且溶液中碳的回收率偏低^[13]。也有研究发现，应用重铬酸盐氧化土壤、有机肥和水中 DOC 的效率仅为 58% ~ 90%^[12]。

比色法测得的土壤 DOC 含量的平均值最低，数据离散度最小，极差和标准差也最小，CV 仅 41%。相对于 TOC 仪法，比色法所测得数据的绝对差异最大，平均值的相对差异高达 61.4%；由此，应用比色法测定土壤 DOC 含量最不敏感，低估程度最高；这可能与 $Mn(Na_2HP_2O_7)_3$ 对碳的不完全氧化有关，也可能受到标准溶液(草酸)与土壤浸提液分子成分不一致的影响。有研究显示，比色法测定的水体和土壤浸提液中 DOC 含量仅及 TOC 仪法的约 81%和 73% ~ 82%^[9]。

紫外分光光度法测得的土壤 DOC 含量的平均值与 TOC 仪法最为接近，但存在低含量时低估，高含量时高估的问题(图 1)。这种估计误差有可能源于土壤 DOC 浓度较高或较低时，DOC 浓度与 UV 吸光度的不呈比例关系^[11]。也可能是因为建立回归方程时所用样品的 DOC 含量没有涵盖供试样品的含量范围。总体上，紫外分光光度法的相对差异最小，平均值的相对差异仅 25.3%。

对 DOC 含量较高的表土，容量法测得结果与 TOC 仪法最为接近，但仍低估 25% ~ 67%(图 1)；比色法在测定土壤 DOC 含量 >600 mg/kg 时最不敏感，低估达 53% ~ 93%；但对土壤 DOC 含量 <200 mg/kg 的底土，比色法的可靠性较好，仅低估 7% ~ 27%。紫外分光光度法的相对差异变幅最大，在高 DOC 含量时存在低估现象，而在 DOC 含量 <200 mg/kg 时高估达 65% ~ 189%。

2.2 不同方法测得的土壤 DOC 含量的转换

4 种方法测得的土壤 DOC 含量均存在极显著的线性或非线性正相关关系。应用线性方程拟合 TOC 仪法和容量法所测定的 DOC 数据，获得的 R^2 值最高(0.97)。协方差分析表明，将表土和底土分别拟合的回归直线的差异不显著($P = 0.114$)，故将表土和底土的样点合并，拟合成一条直线(图 2)。

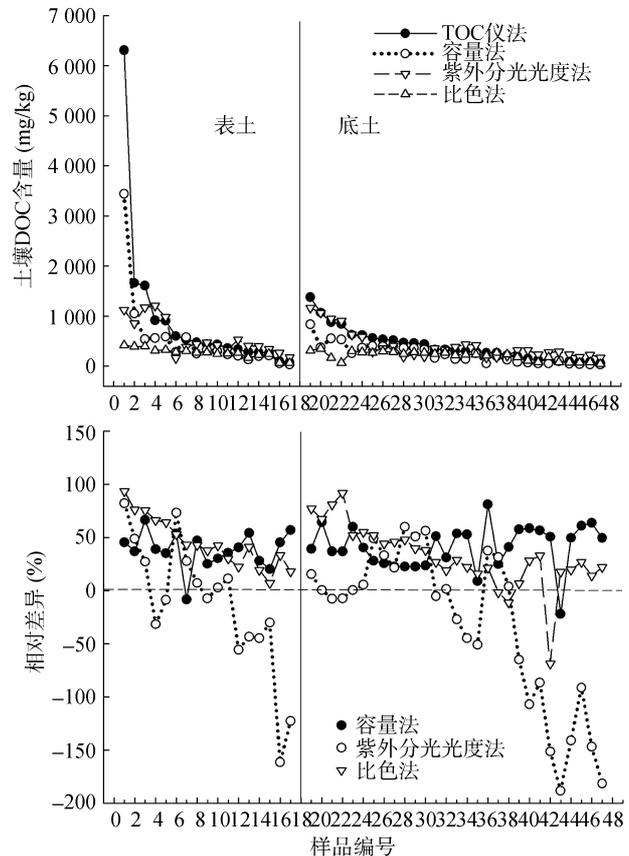


图 1 不同方法测得的土壤 DOC 含量的对比和相对差异
Fig. 1 Comparison of soil DOC data from TOC analyzer, volumetry, UV absorption, and colorimetric methods

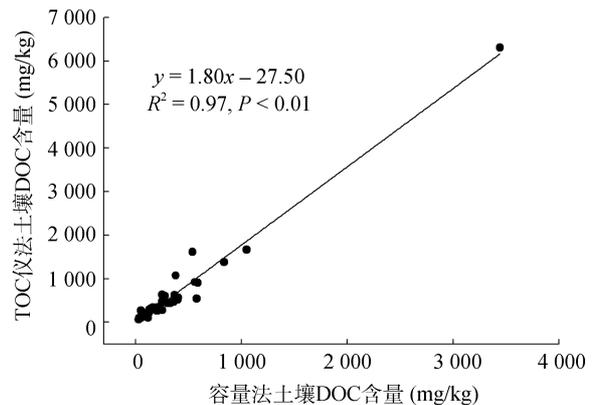


图 2 TOC 仪法和容量法测得的土壤 DOC 含量的关系
Fig. 2 Relation of soil DOC data between TOC analyzer and volumetric method

应用指数方程拟合 TOC 仪法和比色法的数据，获得最高的 R^2 值(0.88)(图 3)。协方差统计显示，将表土和底土分别拟合的回归曲线的差异极显著($P < 0.01$)。类似地，采用指数方程拟合表土 TOC 仪法和紫外分光光度法的数据获得的 R^2 值最高(0.63)，但应用线性模型拟合底土 DOC 数据时， R^2 值最高(0.76)。

TOC 仪法所测得的表土和底土 DOC 数据与容量法数据均具有很好的线性相关性。容量法测定 DOC

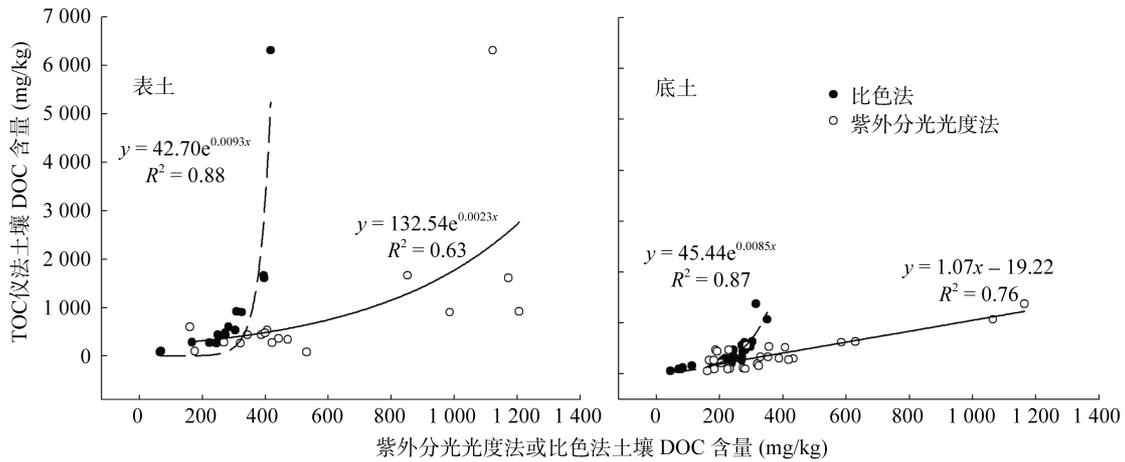


图 3 TOC 仪法与紫外分光光度法或比色法测定的 DOC 含量的关系

Fig. 3 Relation of soil DOC data between TOC analyzer and UV absorption or colorimetric methods

存在的低估问题,可通过图 2 中的线性校准方程得到一定程度的弥补。紫外分光光度法和比色法均为间接方法,所测得的土壤 DOC 含量与 TOC 仪法的数据差异较大。而且,表土和底土需采用不同的经验回归方程(图 3),这可能与表土和底土 DOC 的紫外吸收光谱存在显著的差异有关^[2]。也有研究采用简单的线性方程来校正比色法($\times 1.31$)所测得的 3 种土壤的 DOC 含量^[9]。由于不同研究者应用的土壤类型、样品数量、分析仪器和前处理方法均不尽相同,获得的转换方程类型和参数也是不同的。虽然本研究的样本数量较多,也具有一定的区域代表性,但现实的土壤类型极为多样,仍需更多土壤类型的检验和验证,以不断的修正转换方程式和参数。

3 结论

应用容量法、紫外分光光度法和比色法测得土壤 DOC 含量与 TOC 仪法测得的数据具有一定的差异。容量法和比色法不能完全氧化 DOC,测得的 DOC 含量低于 TOC 仪法的数据,有必要乘以一定的系数进行换算。紫外分光光度法在 DOC 含量较低时产生低估,而在含量较高时存在明显高估现象,说明此法应用局限很大,不宜外推至其他土壤条件。上述结果也进一步说明土壤 DOC 的测定标准仍有一定的改进空间。虽然相对 TOC 仪法的测定结果,其他 3 种方法测得的数据有所偏低,但均与 TOC 仪法测得的数据存在很好的线性或非线性相关关系,经过统计拟合,本研究建立了其他 3 种方法与 TOC 仪法的转换关系式。这些转换关系式均是经验性的,在亚热带山地丘陵土壤上具有一定的应用价值,但是否适应于其他区域土壤类型仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Zsolnay A. Dissolved organic matter: Artefacts, definitions, and functions[J]. *Geoderma*, 2003: 113(3/4): 187–209
- [2] 蒋友如, 盛浩, 王翠红, 廖超林, 周清, 张杨珠. 湘东丘陵陵区 4 种林地深层土壤溶解性有机碳的数量和光谱特征[J]. *亚热带资源与环境学报*, 2014, 9(3): 61–67
- [3] 田静, 郭景恒, 陈海清, 范明生, 吕润海, 魏荔, 李晓林. 土地利用方式对土壤溶解性有机碳组成的影响[J]. *土壤学报*, 2011, 48(2): 338–346
- [4] Wilson HF, Xenopoulos MA. Effects of agricultural land use on the composition of fluvial dissolved organic matter[J]. *Nature Geoscience*, 2009, 2(1): 37–41
- [5] Bolan NS, Adriano DC, Kunhikrishnan A, James T, McDowell R, Senesi N. Dissolved organic matter: Biogeochemistry, dynamics, and environmental significance in soils[J]. *Advances in Agronomy*, 2009, 110(13/14): 1–75
- [6] 李忠佩, 焦坤, 吴大付. 不同提取条件下红壤水稻土溶解有机碳的含量变化[J]. *土壤*, 2005, 37(5): 512–516
- [7] 王贵胤, 张世熔, 周玲, 李森, 骆淑霞, 罗洪华. 不同试剂提取紫色土溶解性有机碳含量研究[J]. *西南农业学报*, 2012, 25(6): 2 184–2 189
- [8] 吕国红, 周广胜, 周莉, 贾庆宇. 土壤溶解性有机碳测定方法与应用[J]. *气象与环境学报*, 2006, 22(2): 51–55
- [9] 占新华, 周立祥. 土壤溶液和水体中水溶性有机碳的比色测定[J]. *中国环境科学*, 2002, 22(5): 433–437
- [10] Weishaar JL, Aiken GR, Bergamaschi BA, Fram MS, Fujii R, Mopper K. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon[J]. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37(20): 4 702–4 708
- [11] 罗小三, 仓龙, 郝秀珍, 李连祯, 周东美. 原位土壤溶液采样及可溶性有机碳(DOC)的紫外吸收光谱直接测定探讨[J]. *土壤*, 2007, 39(6): 943–947
- [12] Bolan NS, Baskaran S, Thiagarajan S. An evaluation of the methods of measurement of dissolved organic carbon in soils, manures, sludges, and stream water[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1996, 27(13): 2 723–2 737

- [13] 奚森, 周桂玉, 邵晨, 刘艳丽, 杨翔宇. 土壤提取液中有有机碳量测定方法的比较[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(2): 99–101, 126
- [14] 盛浩, 周清, 黄运湘, 廖超林, 张杨珠. 我国亚热带山地土壤发生特性和系统分类研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(5): 143–149
- [15] 杨锋. 湖南土壤[M]. 北京: 农业出版社, 1989: 42–49
- [16] 李振高. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 322–343
- [17] Deflandre B, Fafne JP. Estimation of dissolved organic carbon (DOC) concentrations in nanoliter samples using UV spectroscopy[J]. *Water Research*, 2001, 35(13): 3 057–3 062
- [18] Bartlett RJ, Ross DS. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1988, 52(4): 1 191–1 192
- [19] Doyle A, Weintraub MN, Schimel JP. Persulfate digestion and simultaneous colorimetric analysis of carbon and nitrogen in soil extracts[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2004, 68(2): 669–676

Comparison and Transform of Soil Dissolved Organic Carbon Measured by Four Methods

SHENG Hao¹, SONG Di-si¹, WANG Cui-hong¹, ZHOU Ping², ZHANG Yang-zhu¹

(1 *College of Resources & Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China*; 2 *Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China*)

Abstract: Soil dissolved organic carbon (DOC) is essential for soil fertility and environmental health. Currently several different methods are available to measure soil DOC, which lead to poor comparability for soil DOC levels. Here, we used four methods, i.e., total organic carbon(TOC) analyzer method, volumetry method, ultraviolet absorption method, and colorimetric method, to determine DOC concentration in fresh soil extracts. In total 46 fresh soil samples from profiles which were belonged to 6 soil genuses developed in hills and mountains in mid-subtropical region were collected. Results showed that comparing with DOC data from TOC analyzer, soil DOC concentrations from volumetry and colorimetric methods were underestimated by 20%–67% and 7%–93%, respectively. UV absorption method also underestimated for topsoils but overestimated by 65%–189% for subsoils. Positive significant correlations were existed among DOC data from these four methods ($P < 0.01$). Linear or non-linear equations were developed to transform DOC data from volumetry, ultraviolet absorption, and colorimetric methods into that from TOC analyzer, and it is necessary to apply different equations and parameters for topsoils and subsoils. These empirical equations and parameters are useful in enhancing the comparability of soil DOC data from different studies and improving the standard of soil DOC measurement.

Key words: Labile organic carbon; Mountain soils; Subsoil; TOC method; Volumetry method; Colorimetric method; UV spectroscopy