

酸性土壤中亚硝态氮提取方法的改进^①戴沈艳¹, 温 腾^{1,2,3,4}, 张金波^{1,2,3,4*}, 蔡祖聪^{1,3,4}

(1 南京师范大学地理科学学院, 南京 210023; 2 江苏省地理环境演化国家重点实验室培育建设点, 南京 210023;

3 江苏省地理信息资源开发与利用协同创新中心, 南京 210023; 4 南京师范大学虚拟地理环境教育部重点实验室, 南京 210023)

摘 要: 亚硝态氮($\text{NO}_2\text{-N}$)是土壤硝化和反硝化过程中很重要的一种中间产物, 与土壤中含氮气体的产生密切相关。 $\text{NO}_2\text{-N}$ 在土壤中的转化极其迅速, 尤其在强酸性条件下 $\text{NO}_2\text{-N}$ 极不稳定, 2 mol/L KCl 溶液提取过程中会大量发生分解。为了更准确地研究酸性土壤中的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 变化, 必须选择合适的提取剂, 以实现土壤中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的高效提取。本文采用 ^{15}N 标记方法, 系统比较了不同方法提取土壤 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的回收率, 提出了改进措施。结果显示: 调节强酸性土壤初始 pH 为 6.0 和 8.0 处理, 经 2 mol/L KCl 溶液提取, 提取液的 pH 分别保持在 4.8 和 5.8 左右, 显著高于对照(3.8)。pH 与振荡时间对酸性土壤 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的回收率存在显著的交互影响。振荡时间 30 min 以内, pH 6.0 和 pH 8.0 处理, $\text{NO}_2\text{-N}$ 的回收率最高; 而振荡时间为 30 min 时, 未调节 pH 和 pH 6.0 处理 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的回收率最高。综合考虑, 提取土壤无机氮时, 土壤/KCl 悬浮液的 pH 保持在 5.0~6.0, 振荡时间 30 min, 能同时满足对土壤 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的提取。对于强酸性土壤(pH<6.0), 本研究推荐使用 KCl 溶液和 pH 8.4 的缓冲液混合溶液(KCl 溶液/缓冲液比为 4/1)作为提取液(土/液比为 1/5)。对于 pH 在 7.5 以上的土壤样品, 推荐使用 KCl 溶液和 pH 7.5 的缓冲液混合溶液(KCl 溶液/缓冲液比为 4/1)作为提取液(土/液比为 1/5)。对于 pH 在 6.0~7.5 的土壤样品, 可以直接使用 2 mol/L KCl 溶液提取。

关键词: 亚硝态氮; 回收率; pH 缓冲液; 酸性土壤

中图分类号: S151.9 **文献标识码:** A

亚硝态氮($\text{NO}_2\text{-N}$)是硝化和反硝化过程中很重要的一种中间产物^[1-2], 由于 $\text{NO}_2\text{-N}$ 在土壤中的转化极其迅速^[3], 长期以来被大多数学者认为是瞬间产物, 在土壤氮的动态研究中经常被忽略^[4-6]。但是当一些环境因素导致 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的消耗速率低于产生速率时, $\text{NO}_2\text{-N}$ 会在环境中积累。土壤中积累的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 可能会引起一系列的环境问题, $\text{NO}_2\text{-N}$ 具有一定的毒性, 能降低血液的载氧能力, 导致高铁血红蛋白血症, 甚至诱发硝化系统癌变^[7-8]。因此当土壤中的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 进入水生生态系统时, 会对人类和其他生物的健康产生影响。此外, $\text{NO}_2\text{-N}$ 会与土壤中其他物质反应, 生成 NO 、 NO_2 、 N_2O 和 CH_3ONO 等物质, 可能会破坏平流层中的臭氧^[9-11], 还会引起对流层中臭氧的形成, 导致酸雨、温室气体增多等现象^[11,12-13]。目前, $\text{NO}_2\text{-N}$ 在食物、水体、土壤中的来源及重要性愈加受到关注。准确地测定土壤中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的含量, 将有助于加深对土壤氮转化过程的认识。

2 mol/L KCl 溶液提取土壤无机氮是一种普遍使用

的经典方法, 但在提取酸性土壤 $\text{NO}_2\text{-N}$ 时, 由于回收率远低于 100%, 土壤 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量会被大大低估^[14]。国内学者在研究土壤 $\text{NO}_2\text{-N}$ 动态时, 常忽略 KCl 提取剂的这一问题^[8,15-17]。Stevens 和 Laughlin^[14]及 Homyak 等^[18]尝试解决这一问题, 已有的结果表明: 当用去离子水取代 2 mol/L KCl 溶液时, 土壤/水悬浮液较土壤/KCl 悬浮液难过滤, 而且水提取液储存过程中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 更不稳定; 改用 KOH 溶液提高土壤/KCl 悬浮液的 pH, 会明显增加 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的回收率, 但是由于酸性土壤具有较强的缓冲能力, 振荡后提取液的 pH 仍会下降, $\text{NO}_2\text{-N}$ 还是会有所损失, 而且此方法操作繁琐, 增加了试验的时间。另外, pH 较高的条件下, 容易发生氮挥发损失, 所以需要综合考虑提取条件, 以实现土壤样品 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的同时提取。

为此, 本文选用 5 种不同 pH 的土壤, 研究了不同 pH、不同提取时间对于酸性土壤中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 回收率的影响; 同时研究了不同缓冲溶液对于土壤

基金项目: 国家自然科学基金项目(41330744)资助。

* 通讯作者(zhangjinbo@njnu.edu.cn)

作者简介: 戴沈艳(1984—), 女, 江苏启东人, 博士研究生, 主要研究方向为土壤中亚硝态氮的转化。E-mail: daishenyan0519@163.com

/KCl 悬浮液 pH 的调节能力,以期简化 KOH 溶液调节土壤/KCl 悬浮液 pH 的繁琐过程,改进土壤 NO₂⁻-N 提取方法,同时满足 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 的提取要求。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

选取 5 种不同 pH 的土壤,分别为江西双圳林

场红壤(SZ, pH_水 4.5)、江西龙虎山水稻土(LHS, pH_水 5.2)、江苏宜兴水稻土(YX, pH_水 6.2)、内蒙古锡林浩特栗钙土(NM, pH_水 7.4)和四川盐亭紫色土(YT, pH_水 7.8)。采样深度为 0 ~ 15 cm,过 2 mm 筛后,一部分于 4℃ 保存备用,另一部分在室温下风干,测定土壤理化性质。供试土壤的主要理化性质见表 1。

表 1 供试土壤基本理化性质
Table1 Basic physical and chemical properties of tested soils

土壤	pH(土/水=1/2.5)	pH _{KCl} (土/KCl=1/5)	有机碳(g/kg)	全氮 (g/kg)	C/N	NH ₄ ⁺ -N(mg/kg)	NO ₃ ⁻ -N(mg/kg)	NO ₂ ⁻ -N(μg/kg)
SZ	4.5	3.8	29.9	1.5	20.6	11.1	10.4	3.2
LHS	5.2	4.1	7.9	0.8	9.9	8.2	5.0	5.1
YX	6.2	4.7	11.2	1.3	8.6	1.0	4.1	18.5
NM	7.4	6.9	16.4	1.6	10.2	2.0	11.1	83.2
YT	7.8	7.1	25.9	1.4	18.9	2.0	7.0	32.9

1.2 试验设计

1.2.1 pH 和提取时间对土壤中 NO₂⁻-N、NH₄⁺-N 回收率的影响试验 选取一种强酸性土壤(SZ, pH_水 4.5),称取新鲜土(相当于烘干土 20 g)置于 250 ml 三角烧瓶中。设置 pH 和提取时间交互处理试验,3 个 pH 处理,即未调节 pH(pH 4.5 左右)、pH 6.0、pH 8.0 处理,每个 pH 处理再设置 4 个提取时间,即振荡 10、20、30、60 min,共 12 个处理。每个处理分别设置 ¹⁵NO₂⁻-N 和 ¹⁵NH₄⁺-N 两组标记,即一组加入 Na¹⁵NO₂ 溶液(¹⁵N 丰度 2 atom%),另外一组加入(¹⁵NH₄)₂SO₄ 溶液(¹⁵N 丰度 5.34 atom%),3 次重复,共 72 瓶。由于酸性土壤中 NO₂⁻-N 背景值较低,为能准确地检测 NO₂⁻-N 浓度和丰度的变化,本试验 NO₂⁻-N 的加入量为 3 mg/kg,与 Stevens 和 Laughlin^[14]的研究相似;而 NH₄⁺-N 的加入量参照了供试土壤 NH₄⁺-N 背景值(11.1 mg/kg),设置为 10 mg/kg。使用 KOH 溶液调节土壤/2 mol/L KCl 悬浮液 pH 到试验设定值(土/水=1/2.5 测定 pH),迅速加入标记物后,马上按照预定提取时间振荡提取,过滤后测定滤液中的 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 含量和 ¹⁵NH₄⁺-N、¹⁵NO₂⁻-N 中 ¹⁵N 丰度,同时测定提取液 pH。

1.2.2 pH 缓冲溶液调节提取液 pH 效果试验 配制 pH 缓冲溶液:将 1/15 mol/L 的磷酸二氢钾溶液和磷酸氢二钠溶液^[19]按不同比例混合,配制成 pH 为 7.5、8.0、8.4 的磷酸盐缓冲溶液。同时配制浓度为 2、2.5 和 3.33 mol/L 的 KCl 溶液。以 SZ、LHS、YX、NM、YT 五种土壤为研究对象,每个土壤称取若干

份新鲜土(相当于烘干土 10 g)至 100 ml 三角烧瓶中,设置 3 种处理:对照,即不加缓冲液,直接加 50 ml 2 mol/L KCl 溶液后摇匀,静置,测定 pH,后置于摇床,200 r/min,分别振荡 10、20、30、60 min 后测定 pH;10 ml 缓冲溶液处理,即提取液为 40 ml 2.5 mol/L KCl 溶液和 10 ml 缓冲溶液混合溶液,其中 SZ 和 LHS 加入 pH 8.4 的缓冲溶液,YX 加入 pH 8.0 缓冲溶液,NM 和 YT 加入 pH 7.5 缓冲溶液,其余操作同;20 ml 缓冲溶液处理,即提取液为 30 ml 3.33 mol/L KCl 溶液和 20 ml 缓冲溶液混合溶液,其中 SZ 和 LHS 加入 pH 8.4 的缓冲溶液,YX 加入 pH 8.0 的缓冲溶液,NM 和 YT 加入 pH 7.5 的缓冲溶液,其余操作同。研究不同缓冲液处理对 pH 的调节效果。

1.2.3 土壤 NO₂⁻-N 动态试验 选取 SZ 和 YT 两种土壤,每个土壤称取新鲜土(相当于烘干土 10 g),置于 100 ml 三角烧瓶中,共 45 个瓶子,调节含水量至 40%WHC,预培养 3 d 后,调节含水量至 60%WHC,保鲜膜封口,扎孔保证通气,置于 25℃ 恒温箱培养,并每隔 3 d 称重补水。在培养的 0、1、3、5、10 d 进行破坏性取样。设置 3 种不同提取方法处理:加 50 ml 2 mol/L KCl 溶液(CK);加入 40 ml 2.5 mol/L KCl 溶液和 10 ml 缓冲液混合溶液(T1);加入 30 ml 3.33 mol/L KCl 溶液和 20 ml 缓冲液混合溶液(T2),置于摇床,200 r/min,振荡 30 min 后过滤,测定滤液中的 NO₂⁻-N 含量。

1.3 分析方法

NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 含量测定:使用连续流

动分析仪(SKALAR SAN⁺⁺)测定。¹⁵N 丰度测定：使用同位素比值质谱仪(Thermo delta V plus)测定,其中¹⁵NH₄⁺-N 中¹⁵N 丰度样品采用扩散法制备^[20],¹⁵NO₂⁻-N 中¹⁵N 丰度样品采用N₂O产生法制备^[21]。土壤 pH 测定：采用 pH 计(METTLER TOLEDO S220 Seven Compact)测定。

1.4 数据处理

回收率计算：

$$R = \frac{Q_2 \times (A_2 - 0.3663 \text{ atom}\%)}{Q_1 \times (A_1 - 0.3663 \text{ atom}\%)} \times 100\%$$

式中： R 为回收率，%； Q_1 为加入的氮浓度，mg/kg； Q_2 为提取测定的氮浓度，mg/kg； A_1 为添加的¹⁵N 丰度，atom%； A_2 为提取后测定的¹⁵N 丰度，atom%。

测定得到的数据采用 Excel 2010 进行数据处理，使用方差分析(SPSS16.0)检验各处理间的差异显著性，采用 Origin 8.0 绘图。

2 结果

2.1 提取过程中土壤提取液 pH 的变化

表 1 数据表明，2 mol/L KCl/土壤悬浊液 pH 要明显低于水/土壤悬浊液。试验 1 供试土壤(SZ)2 mol/L KCl/土壤悬浊液 pH 仅为 3.8。振荡 10 min 时，不同处理 KCl 提取液的 pH 均明显下降，pH 4.5、pH 6.0 和 pH 8.0 处理的 pH 分别为 3.8、4.8 和 5.8(图 1)。之后，提取液 pH 相对稳定。

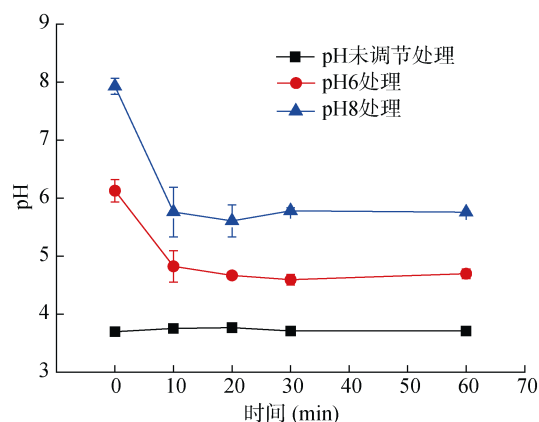


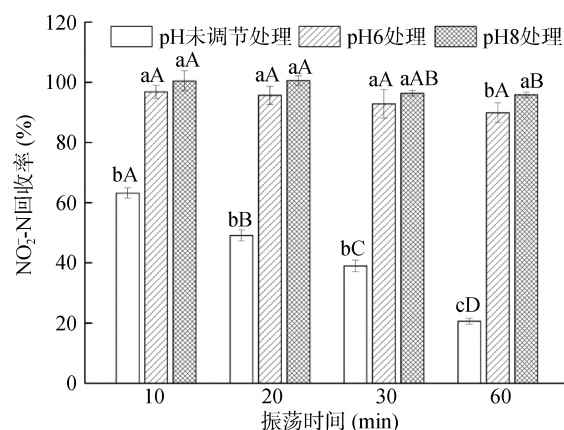
图 1 不同振荡时间下提取液 pH 变化

Fig. 1 Changes of pH values of extraction solutions under different shaking time

2.2 不同 pH 和振荡时间对酸性土壤 NO₂⁻-N、NH₄⁺-N 回收率的影响

试验结果表明，不同 pH 处理的 NO₂⁻-N 回收率差异显著(图 2)。随着 pH 的升高，NO₂⁻-N 的回收率

也随之升高。未调节 pH 处理(pH 4.5)，NO₂⁻-N 回收率仅为 21% ~ 63%；虽然振荡 10 min 后，调节 pH 处理的 pH 均大幅下降，但是 NO₂⁻-N 回收率(>90%)均显著高于未调节 pH 处理。振荡时间也影响 NO₂⁻-N 的回收率(图 2)。随着振荡时间的增加，NO₂⁻-N 回收率下降，与振荡时间为 10、20、30 min 相比，振荡时间 60 min NO₂⁻-N 回收率下降更多，这种现象在未调节 pH 处理尤为明显，其振荡 60 min 后 NO₂⁻-N 的回收率仅为振荡 10 min 时的 30%。除振荡 60 min 外，pH 6.0 和 pH 8.0 处理间差异不显著，NO₂⁻-N 回收率均>92%。振荡 60 min 时，pH 6.0 处理 NO₂⁻-N 回收率显著低于 pH 8.0 处理。双因素方差分析结果表明，pH 与振荡时间对 NO₂⁻-N 的回收率存在显著的交互影响。振荡时间 30 min 以内，pH 8.0 处理 NO₂⁻-N 的回收率最高，但是与 pH 6.0 处理差异不显著。



(图中不同小写字母表示不同 pH 处理在同一振荡时间回收率差异在 $P < 0.05$ 水平显著；不同大写字母表示同一 pH 处理在不同提取时间回收率差异在 $P < 0.05$ 水平显著；下同)

图 2 不同 pH、不同振荡时间下 NO₂-N 的回收率

Fig. 2 Recoveries of NO₂-N under different pH values and shaking time

NH₄⁺-N 的回收率与 NO₂⁻-N 有所不同(图 3)。除振荡 30 min 处理外，调节 pH 对 NH₄⁺-N 的回收率影响不大；而振荡时间对 NH₄⁺-N 的回收率有显著的影响，振荡 30 min NH₄⁺-N 的回收率最高，显著高于其他振荡时间，振荡 10 min 和 20 min NH₄⁺-N 的回收率最低。双因素方差分析结果表明，pH 与振荡时间对 NH₄⁺-N 的回收率存在显著的交互影响。振荡时间为 30 min，未调节 pH 和 pH 6.0 处理回收率最高，显著高于其他处理。

2.3 缓冲溶液对土壤提取液 pH 的影响

加入缓冲液后，随着振荡时间的增加，所有供试土壤的 pH 均逐渐下降，特别是强酸性土壤(SZ)，pH 在振荡 10 min 内就迅速下降，振荡 60 min 后，

加入 10 ml 和 20 ml 缓冲液处理, pH 从开始的 6.18 分别下降为 5.0 和 6.0。其余土壤 pH 随着振荡时间的变化幅度小于 SZ, 振荡过程中 pH 均能保持在 6.0 ~ 7.0。

2.4 NO_2^- -N 提取方法的改进效果

结果表明, 随着培养时间的增加, 供试土壤中 NO_2^- -N 含量逐渐增加。强酸性土壤(SZ)添加 10 ml 和 20 ml 缓冲液处理提取测定的 NO_2^- -N 含量差异不大, 均明显高于 CK 处理, 培养 10 d 后, 测定的土壤 NO_2^- -N 含量是 CK 的 2.5 倍(图 5A)。四川盐亭碱性紫色土(YT), 随着培养时间的增加, 土壤中 NO_2^- -N 含量也逐渐增加。但是在整个培养过程中, 3 种不同处理的 NO_2^- -N 含量均未有显著差异(图 5B)。

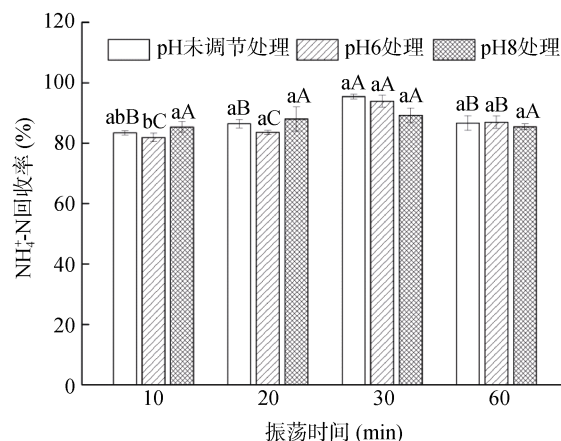
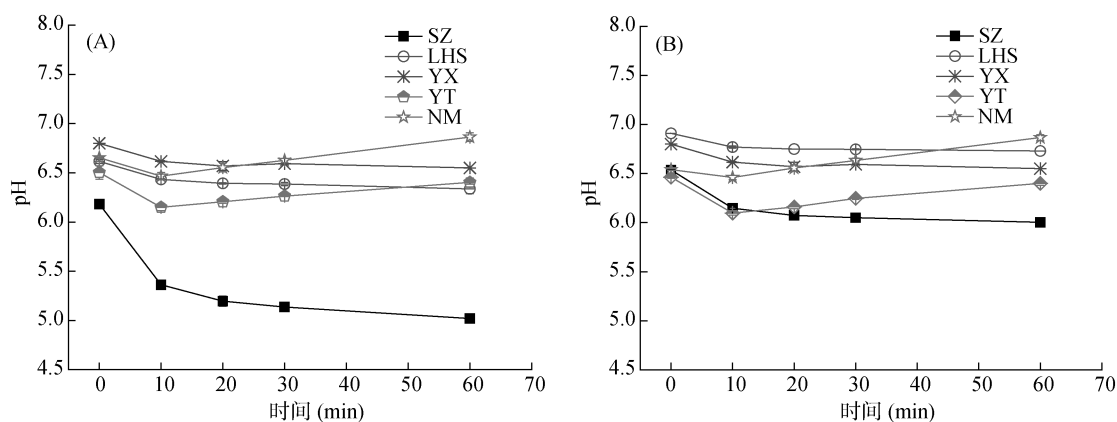


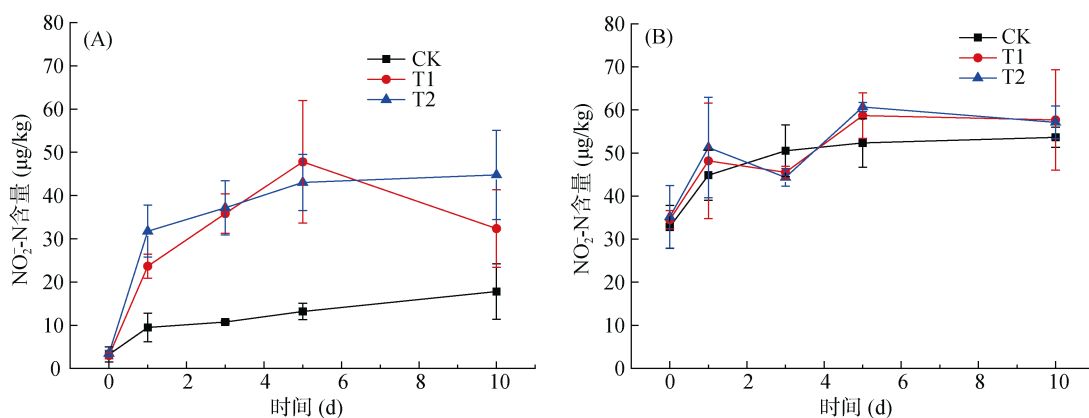
图 3 不同 pH、不同振荡时间下 NH_4^+ -N 的回收率
Fig. 3 Recoveries of NH_4^+ -N under different pH values and shaking time



(图中 SZ 为江西双圳林场红壤, LHS 为江西龙虎山水稻土, YX 为江苏宜兴水稻土, NM 为内蒙古锡林浩特栗钙土; YT 为四川盐亭紫色土)

图 4 加入 10 ml(A)和 20 ml(B)缓冲液处理不同振荡时间下土壤 pH 的变化

Fig. 4 Changes of soil pH under different shaking time after added 10 ml (A) and 20 ml (B) buffer solutions



(CK 为不加缓冲液, T1 为加入 10 ml 缓冲液, T2 为加入 20 ml 缓冲液)

图 5 不同提取方法测定的土壤 NO_2^- -N 含量

Fig. 5 measured NO_2^- -N concentrations using different extraction methods

3 讨论

本研究结果表明, 未调节土壤/KCl 悬浮液 pH 条

件下, 2 mol/L KCl 溶液提取强酸性土壤 NO_2^- -N 的回收率仅为 21% ~ 63%, 而调节初始 pH 为 6.0 和 8.0 后(土/水=1/2.5), NO_2^- -N 的回收率显著高于对照, 说

明土壤中的 NO_2^- -N 的提取测定结果与提取液 pH 密切相关。由于土壤的缓冲能力和 KCl 溶液的影响, 提取过程中 pH 6.0 和 pH 8.0 处理的土壤/KCl 悬浮液 pH 保持在 4.8 和 5.8, 该条件下 NO_2^- -N 回收率均达到 90% 以上。Nelson and Bremner^[22]的研究也发现, pH 在 4.8 ~ 6.0(土/水=1/2.5)之间时 NO_2^- -N 的回收率平均为 69%, 但是当 pH 为 7.1 ~ 7.8 时, 平均回收率达 95%。如果考虑到 KCl 溶液会明显降低悬浮液 pH, Nelson 和 Bremner^[22]的结果与本研究的结果应该基本一致。已有的研究表明, 在强酸性环境下, NO_2^- -N 极易转化为 HNO_2 , HNO_2 随后自我分解, 主要产生 NO, 再进一步氧化为 NO_2 ^[23]。当 pH 升高时, NO_2^- -N 的分解受到限制, 所以 NO_2^- -N 损失减少^[17,24]。同时 NO_2^- -N 的回收率还与提取时间有关, 随着提取时间的增加, 回收率显著下降。Stevens 和 Laughlin^[14]也观测到提取时间为 10 min 时 NO_2^- -N 平均回收率(86%)是提取 70 min 的 3 倍。本研究结果表明, pH 与振荡时间对 NO_2^- -N 的回收率存在显著的交互影响, 振荡时间 30 min 以内, 提取液 pH 保持在 5.0 左右, NO_2^- -N 的回收率可 > 92%。虽然在提取过程中保持 pH 越高(如 pH 7 ~ 8 之间)可以保证获得较高的 NO_2^- -N 回收率^[22], 但是较高的 pH 环境和长时间的振荡可能会促进氨的挥发损失, 从而低估土壤 NH_4^+ -N 的含量。本研究的结果表明, 提取液 pH 保持在 5.0 左右, 振荡时间为 30 min 时, NH_4^+ -N 的回收率最高。综合考虑, 提取酸性土壤无机氮的最优条件是: 提取液 pH 保持在 5.0 ~ 6.0, 振荡提取时间 30 min, 能同时保证土壤 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的提取效率。

2 mol/L KCl 溶液提取强酸性土壤 NO_2^- -N 时会低估 NO_2^- -N 的实际含量, 通过调节提取液 pH 的方法可以有效地避免这一问题。已有研究中常用的方法是使用 KOH 溶液调节土壤/KCl 悬浮液 pH, 但是这种方法较为繁琐, 而且由于酸性土壤具有较强的缓冲能力, 土壤/KCl 悬浮液 pH 不容易保持。相比之下, 使用低浓度的磷酸盐缓冲溶液调节 pH 方法更简便, 易于操作, 并且在振荡 60 min 后都能保持较高的 pH。本研究结果证明, 磷酸盐缓冲液能有效地保持提取过程中提取液的 pH, 满足提取条件的要求。

目前尚未完全清楚在 2 mol/L KCl 溶液提取时亚硝酸盐发生变化的准确机制。 NO_2^- -N 的反应速率取决于 pH、有机质、反应时间和其他至今尚未确定的因素^[14]。因此, 提取过程中影响 NO_2^- -N 动态的机理有待于深入研究, 这对于进一步优化提取方法具有重

要的意义。

4 结论

本研究结果表明, 强酸性土壤 NO_2^- -N 提取过程中, 土壤/KCl 悬浮液的 pH 应该保持在 5.0 ~ 6.0, 振荡时间 30 min, 能同时保证土壤 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的提取效率。对于强酸性土壤(pH < 6.0), 推荐使用 KCl 溶液和 pH 8.4 的缓冲液混合溶液(KCl 溶液/缓冲液比为 4/1)作为提取液(土/液比为 1/5)。对于 pH 在 7.5 以上的土壤样品, 推荐使用 KCl 溶液和 pH 7.5 的缓冲液混合溶液(KCl 溶液/缓冲液比为 4/1)作为提取液(土/液比为 1/5)。对于 pH 在 6.0 ~ 7.5 的土壤样品, 可以直接使用 2 mol/L KCl 溶液提取。

参考文献:

- [1] Cleemput O V, Samater A H. Nitrite in soils: Accumulation and role in the formation of gaseous N compounds[J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 1995, 45(1): 81-89
- [2] Russow R, Sich I, Neue H U. The formation of the trace gases NO and N_2O in soils by the coupled processes of nitrification and denitrification: Results of kinetic ^{15}N tracer investigations[J]. *Chemosphere-Global Change Science*, 2000, 2(3): 359-366
- [3] Burns L C, Stevens R J, Laughlin R J. Determination of the simultaneous production and consumption of soil nitrite using ^{15}N [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1995, 27(6): 839-844
- [4] Serna M D, Bañuls J, Quiñones A, et al. Evaluation of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate as a nitrification inhibitor in a Citrus-cultivated soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 32(1): 41-46
- [5] Yu Q, Chen Y, Ye X, et al. Evaluation of nitrification inhibitor 3, 4-dimethyl pyrazole phosphate on nitrogen leaching in undisturbed soil columns[J]. *Chemosphere*, 2007, 67: 872-878
- [6] 余光辉, 张杨珠, 万大娟. 几种硝化抑制剂对土壤和小白菜硝酸盐含量及产量的影响[J]. *应用生态学报*, 2006, 17: 247-250
- [7] Akimoto F, Matsunami A, Kamata Y, et al. Cross-correlation analysis of atmospheric trace concentrations of N_2O , CH_4 and CO_2 determined by continuous gas-chromatographic monitoring[J]. *Energy*, 2005, 30(2): 299-311
- [8] 鲍俊丹, 张妹婷, 吴雄平, 等. 13 种土壤硝化过程中亚硝态氮的累积与土壤性质的关系[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(9): 1952-1958
- [9] 杨艳菊, 蔡祖聪, 张金波. 氧气浓度对水稻土 N_2O 排放的影响[J]. *土壤*, 2016, 48(3): 549-545
- [10] 马兰, 李晓波, 李博伦, 等. 土壤中羟胺和亚硝态氮非生物过程对 N_2O 排放的贡献[J]. *土壤学报*, 2016, 53(5): 1181-1190

- [11] 潘晓健, 刘平丽, 李露, 等. 氮肥和秸秆施用对稻麦轮作体系下土壤剖面 N_2O 时空分布的影响[J]. 土壤学报, 2015, 52(2): 364–371
- [12] Parsons W F J, Keller M. Controls on nitric oxide emissions from tropical pasture and rain forest soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, 20(3): 151–156
- [13] Smith C J, Chalk P M. Fixation and loss of nitrogen during transformations of nitrite in soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1980, 44(2): 288–291
- [14] Stevens R J, Laughlin R J. Nitrite transformations during soil extraction with potassium chloride[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1995, 59(3): 933–938
- [15] 石美, 张妹婷, 沈锋, 等. 石灰性土壤中不同硝化抑制剂的抑制效果及其对亚硝态氮积累的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(3): 500–506
- [16] 鲍俊丹, 吴雄平, 张妹婷, 等. 石灰性土壤中亚硝态氮的积累机理和条件[J]. 西北农业科技大学学报自然科学版, 2009, 37(6): 145–150
- [17] 冉炜, 沈其荣, 郑金伟, 等. 土壤硝化作用过程中亚硝态氮的累积研究[J]. 土壤学报, 2000, 37(4): 474–481
- [18] Homyak P M, Vasquez K T, Sickman JO, et al. Improving nitrite analysis in soils: drawbacks of the conventional 2 M KCl extraction[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2015, 24: 1237–1242
- [19] 顾捷, 黄元玲. pH=7.0 磷酸盐缓冲溶液配制法的讨论[J]. 环境监测管理与技术, 1997, 9(5): 38
- [20] 温腾, 曹亚澄, 张珮仪, 等. 扩散法测定铵态氮、硝态氮的 ^{15}N 稳定同位素研究综述[J]. 土壤, 2016, 48(4): 634–640
- [21] 曹亚澄, 钟明, 龚华, 等. N_2O 产生法测定土壤无机态氮 ^{15}N 丰度[J]. 土壤学报, 2013, 50(1): 113–119
- [22] Nelson D W, Bremner J M. Gaseous products of nitrite decomposition in soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1970, 2(3): 203–215
- [23] Prather R J, Miyamoto S. Nitric oxide sorption by calcareous soils: III. Effects of temperature and lack of oxygen on capacity and rate[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1974, 38(4): 582–585
- [24] Clark FE, Beard, WE, Smith DH. Dissimilar nitrifying capacities of soils in relation to losses of applied nitrogen[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1960, 24(1): 50–54

Improving Extraction Method in Determining NO_2^- -N in Acidic Soil

DAI Shenyan¹, WEN Teng^{1,2,3,4}, ZHANG Jinbo^{1,2,3,4*}, CAI Zucong^{1,3,4}

(1 School of Geography Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China; 2 State Key Laboratory Cultivation Base of Geographical Environment Evolution, Nanjing 210023, China; 3 Jiangsu Center for Collaborative Innovation in Geographical Information Resource Development and Application, Nanjing 210023, China; 4 Key Laboratory of Virtual Geographic Environment (Nanjing Normal University), Ministry of Education, Nanjing 210023, China)

Abstract: Nitrite (NO_2^- -N) is a key intermediate in both nitrification and denitrification, which is also closely related to the emission of nitrogen gas from soil. Since its rapid reaction in soil and instability in acidic condition, a large number of decomposition will occur in the extraction process using 2 mol/L KCl. In order to enhance the accuracy of study on NO_2^- -N changes in the acidic soil, a more appropriate extraction method should be investigated to improve the efficiency of the nitrite extraction. In this study, we put forward some suggestions in improving NO_2^- -N extraction based our results of NO_2^- -N recovery measured by using ^{15}N -labelling method. The results showed that pH and shaking time could both significantly affect the recovery of NO_2^- -N and NH_4^+ -N in acidic soils. Within 30 min shaking, the recovery of NO_2^- -N was highest in the adjusted pH 6.0 and pH 8.0 treatments, while the recovery of ammonium was highest in the unadjusted and adjusted pH 6.0 treatments. In addition, even after shaking, the pH of extraction solution in the adjusted pH 6.0 and pH 8.0 treatments were maintained at about 4.8 and 5.8, respectively, which were significantly higher than that of control (3.8). In all, the pH of extraction solution should be adjusted to 5.0–6.0 and shaking time should be 30 min to get a more efficient extraction of both NO_2^- -N and NH_4^+ -N. For strongly acidic soils (pH<6.0), a mixture of KCl and pH 8.4 buffer (KCl : buffer = 4 : 1) should be used as extraction solution (the ratio of soil to extraction solution was 1 : 5). For alkaline soils (pH≥7.5), a mixture of KCl and pH 7.5 buffer (KCl : buffer = 4 : 1) should be used as extraction solution (the ratio of soil to extraction solution was 1 : 5). For the soil samples with pH ranged from 6.0 to 7.5, it can be extracted directly by 2 mol/L KCl solution.

Key words: Nitrite; Recovery; pH buffer; Acidic soil