

植物全氮快速测定靛酚比色法

林桂范

(东北农学院·哈尔滨)

植物样品中全氮的测定,以往都采用常规法,需时多,还需有一定设备,为此把对土壤中 NH_4^+-N 的测定方法,移置到对植物样品中全氮的测定;并探索其测试样量及反应条件,使达到快速,准确,不需特殊设备,而能成批分析的目的。

试验设计

(一) 材料:大豆鼓期植株。

(二) 主要仪器和试剂 主要仪器,远红外消煮炉,721分光光度计;主要试剂(1) 酚溶液:10g苯酚和100ml硝普钠 $[\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO} \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 溶于1升水中。此液不稳定,贮暗色瓶,存放4℃冰箱中。(2) 次氯酸钠碱性溶液:10gNaOH, 7.06g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 31.8g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和10ml5.25%NaOCl,溶于1升水中,此液同上保存。

(3) 掩蔽剂:40%(W/V)酒石酸钾钠溶液与10%(W/V)EDTA=钠盐等体积混合。每100ml混合液中加0.5ml10NNaOH溶液。(4) 5PPM NH_4^+-N 标准溶液:0.4717g烘干的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶于水,定容1升此为100PPM NH_4^+-N 标准液,用时稀释20倍即为5PPM NH_4^+-N 标准溶液。

(三) 测定方法

1、植物样品待测定制备:准确称取0.1000和0.4000克样品,于100ml消煮管中加5ml浓 H_2SO_4 ;于远红外消煮炉上消煮,再分次滴加 H_2O_2 ,消煮完毕后(消煮液清澈透明),冷却加水定容至刻度,此溶液可做氮,磷,钾待测液。

2、测定步骤:吸取待测液10ml,于100ml容量瓶中,加水定容至刻度,吸取2.5ml于50ml容量瓶中加水20ml,依次加5ml苯酚溶液和5mlNaOCl,摇匀后置于20℃条件下放置一小时,加EDTA掩蔽剂1ml,溶解可能生成的沉淀物,加水定容摇匀后,用1cm比色槽在波长625nm下测其吸收值。

工作曲线的制作:分别吸取5PPM NH_4^+-N 标准液,0、0.5、1、2、3、4、5ml于50ml容量瓶中(各并相应为0、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5PPM NH_4^+-N),各瓶加空白消煮液2.5ml吸10ml空白消煮液于100ml容量瓶中,加水定容至刻度)用水补足体积至22.5ml,显色后测其吸收值,绘制工作曲线或建立回归方程。

3、计算结果:全N% =
$$\frac{\text{显色液PPm} \times \text{显色液体积} \times \text{分取倍数}}{W \times 10^6} \times 100$$

W—样品重, 10^6 —将mg换算成克的除数,分取倍数—待测体积/吸取待测液体积 = $\frac{100}{2.5}$

试验结果分析

(一) 不同样量及定氮方法的比较

不同样量, 将蒸馏法改为靛酚兰比色法, 所得结果准确度很高, 见表1。从表1中所见, 二个方法其相对误差为0.16%, t 值为0.9409, 不显著, 说明样品由0.4000克降到0.1000克, 比色法代替蒸馏法是可行的。

表1 不同样量, 不同方法间比较

项 目 方 法 样 量 (克)	分 析 结 果 (%)							平 均 值	t 值	相对误差%
蒸 馏 法	0.4000	2.441	2.466	2.470	2.466	2.480	2.449	2.462 ± 0.0144	0.9404	0.16
	0.1000	2.478	2.493	2.493	2.463	2.471	2.478	2.479 ± 0.0120		
比 色 法	0.1000	2.400	2.540	2.520	2.460	2.460	2.520	2.483 ± 0.0528		

(二) 比色法的回收率:

回收率可标志测定方法的稳定性和准确性。为此做了方法的回收率, 具体方法是在试样溶液中各加入已知 $\text{NH}_4\text{-N}$ (5 PPM/50ml) 再测定其含氮量, 计算回收率, 结果如表2, 其回收率为100.44—93.36%, 平均回收率为98.8%, 说明该法测氮稳定、准确。

表2 靛酚兰比色法回收率

样 品 含 N 量 (ppm/50ml)	加入 $\text{NH}_4\text{-N}$ (ppm/50ml)	总含 $\text{NH}_4\text{-N}$ (ppm/50ml)	实测 $\text{NH}_4\text{-N}$ (ppm/50ml)	回收率(%)	平均(%)
6.00	5	11.00	11.40	100.36	98.80
6.35	5	11.35	11.40	100.44	
6.30	5	11.30	11.25	99.56	
6.30	5	11.30	10.55	93.36	
6.15	5	11.15	11.10	99.55	
6.15	5	11.15	11.10	99.55	

(三) 实验条件的选择

1、不同温度对靛酚兰显色的影响: 用0.3PPM $\text{NH}_4\text{-N}$ 标准液, 采用恒温, 定温方法, 分别以15℃, 20℃, 25℃, 30℃温度, 加同样试剂, 放置一小时, 测其吸收值, 如图1。

从图中曲线表明, 温度在15℃时吸收值最低, 20℃, 25℃, 30℃时趋于一致, 无显著差异; 并以同样条件做标准色阶, 测其吸收值, 建立回归方程, 计算含 $\text{NH}_4\text{-N}$ 也相一致如表3, 因而得出靛酚兰比色法测氮的温度以20—30℃最适。

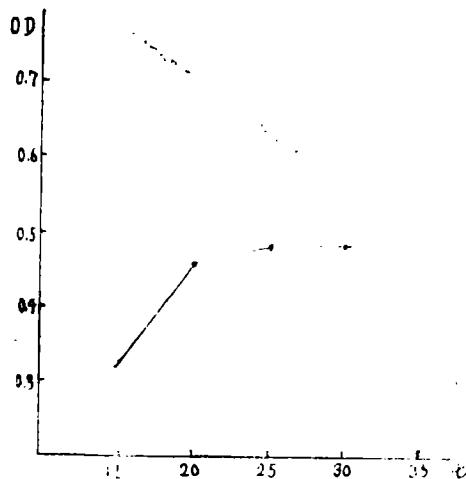


图1 温度对靛酚兰影响

表 3

不同温度 $\text{NH}_4\text{-N}$ 量的比较

项 目 温 度 ($^{\circ}\text{C}$)	实际 $\text{NH}_4\text{-N}$ (ppm)	吸 收 值	$\text{NH}_4\text{-N}$ 量 (ppm)	差 值	相 对 误 差 (%)
15	0.3	0.334	0.186	0.114	46.91
20	0.3	0.462	0.298	0.032	0.67
25	0.3	0.477	0.311	-0.011	3.60
30	0.3	0.479	0.313	-0.013	4.24

2、不同PH值对靛酚兰显色的影响：含有0.3PPM $\text{NH}_4\text{-N}$ ，50ml容量瓶中分别加入6 NH_2SO_4 0、1、2、3、4滴，再加相同试剂显色，测吸收值和反应体系内PH值，其结果：吸收值0.576，0.564，0.462，0.312，无色或极浅色，PH值11.60，11.24，10.30，9.9，8.3。二者关系如图所示。

图中表明：PH值对靛酚兰显色，是决定分析结果准确性主要因素，如PH值在8.3时不显色或很显弱色，随PH值增加吸收值也随着增加，PH在11.24时，显色趋于稳定，靛酚兰显色反应体系的PH值在10.30—11.60之间。工作曲线的PH值和测定样品PH值应保持一致，以免造成误差。

3、不同时间对显色的影响，显色稳定，是能否大批分析样品的关键，因此取不同浓度 $\text{NH}_4\text{-N}$ 若干份，分别加相同试剂，

置于20℃温箱中1小时，2小时，3小时，24小时等4个时间，测其吸收值，结果表明：

不同浓度，显色一小时后，再放置不同时间，其吸收值基本趋于一致，为节省时间，在20℃条件下，一小时后就可比色；同时也看出生成兰色很稳定，24小时内吸收值无显著变化，故靛酚兰法测氮稳定性高，是一个重要原因，可大批分析。

(收稿时间1987年2月17日)

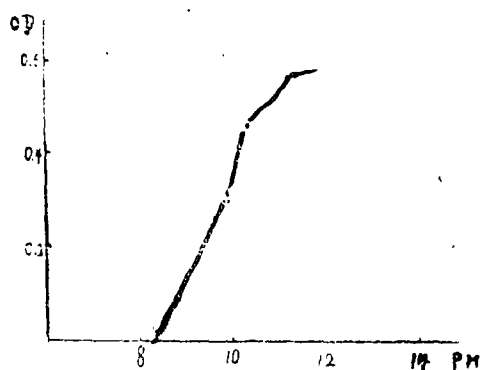


图 2 PH值对靛酚兰显色影响

两 亩 地 收 入 一 万 五

肇州县朝阳沟镇文林村青年农民袁有江大胆引进蔬菜新品种、依靠先进的科学技术，使二亩地纯收入15,000元。

1987年春，袁有江从一家信息报上看到中国农科院新培育的45天就能成熟上市的早角瓜，和不怕冻，越冻越好吃的天然高级细粉丝角瓜两个新品种。觉得很适合本地发展，就当即写信联系，购买了种子和栽培资料，各种一亩。袁有江紧紧依靠一整套的先进科学栽培管理措施，从种到收精心付弄，在发生多种自然灾害的情况下仍获大丰收。由于这两个品种角瓜恰逢蔬菜淡季上市，特别受到人们青睐，不但销路好价格还高。到目前，卖商品菜和卖种子共纯收入15,000元，受到县农科所和乡亲们的好评。(黑龙江省肇州县朝阳沟镇团结村刘波)