

土壤铵态氮中氮稳定同位素丰度测定的 两种前处理方法比较

贺 珍¹, 王久荣¹, 童瑶瑶^{1,2}, 张丽萍¹, 耿梅梅¹,
许丽卫¹, 陈 闻¹, 彭 灿¹, 袁红朝¹

(1. 中国科学院亚热带农业生态过程重点实验室, 湖南 长沙 410125;

2. 江西理工大学, 江西 赣州 341000)

摘要:为了建立一种更准确、更快速的土壤铵态氮中氮稳定同位素丰度测定的前处理方法,分别采用扩散法和 N_2O 产生法进行前处理,通过稳定同位素质谱仪(Flash HT-IRMS)和气体预浓缩-稳定同位素质谱仪(PreCon-IRMS)分析了硫酸铵参比溶液和不同类型稻田土壤浸提液铵态氮中氮稳定同位素丰度。结果表明,采用扩散法和 N_2O 产生法测定硫酸铵参比溶液,均能获得较好的氮同位素分析精度,精密度的分别小于0.5%和0.2%。但扩散法前处理过程中存在氮同位素分馏现象,需要通过标准曲线对测试结果进行校正。而对于不同类型稻田土壤浸提液铵态氮中氮稳定同位素丰度的测定,采用 N_2O 产生法结合PreCon-IRMS的分析方法所获得分析结果的准确度和精密度的均优于扩散法结合Flash HT-IRMS的分析方法。另外,改进后的 N_2O 产生法结合辅助的全自动微量氮转化- N_2O 发生装置可以实现对土壤浸提液铵态氮的在线批量前处理,分析时间短、样品消耗量少,仅需10 μg 的氮量。因此,针对土壤中微量铵态氮中氮稳定同位素丰度测定,采用 N_2O 产生法结合Precon-IRMS的分析方法比扩散法结合Flash HT-IRMS的分析方法更具有优势。

关键词:土壤铵态氮;稳定同位素质谱;氮同位素;扩散法; N_2O 产生法

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2019)04-0349-07

doi:10.7538/zpxb.2019.0002

Comparison of Pretreatment Methods for Nitrogen Stable Isotope Abundance Determination in Soil Ammonium Nitrogen

HE Zhen¹, WANG Jiu-rong¹, TONG Yao-yao^{1,2}, ZHANG Li-ping¹, GENG Mei-mei¹,
XU Li-wei¹, CHEN Wen¹, PENG Can¹, YUAN Hong-zhao¹

(1. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region,

Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China;

2. Jiangxi University of Science and Technology, Ganzhou 341000, China)

收稿日期:2019-01-01;修回日期:2019-03-16

基金项目:国家自然科学基金(41771334,41771337);中国科学院仪器功能开发项目(稳定同位素质谱仪功能开发-全自动微量氮转化- N_2O 发生装置的研制)资助

作者简介:贺 珍(1991—),女(汉族),湖南常德人,助理工程师,从事稳定同位素技术在土壤生态学方面的应用研究。

E-mail: hezhen@isa.ac.cn

通信作者:袁红朝(1981—),女(汉族),湖南邵阳人,副研究员,从事稳定同位素技术在生态学及微生物生态学方面的应用研究。

E-mail: yuanhongzhao@isa.ac.cn

网络出版时间:2019-07-13;网络出版地址:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20190711.1029.010.html>

Abstract: In order to establish more accurately and rapid pretreatment method for the nitrogen stable isotope analysis of soil ammonium nitrogen, diffusion and N_2O produced method were compared, and combined with two commercially available equipment's, *i. e.*, elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometer (Flash HT-IRMS) and trace gas preconcentration-stable isotope mass spectrometry (PreCon-IRMS), respectively, for the analysis of the nitrogen stable isotope abundance in ammonium sulfate reference solutions and soil ammonium nitrogen extracted from different paddy soil samples. The stable isotope measurement results showed that both the diffusion and N_2O produced method coupled IRMS analytical systems were able to provide good analytical data for ammonium sulfate reference solutions in accuracy with precision of superior to 0.5% and 0.2%, respectively. However, there was a nitrogen isotope fractionation accrued in the diffusion-treated process, and the test results needed to be corrected by a standard curve. At the same time, the ^{15}N -stable isotope abundance in ammonium nitrogen extracted from different paddy soils were determined by diffusion and N_2O produced method. The comparison of the analytical data from the two analytical methods indicated that N_2O produced method coupled with PreCon-IRMS provided better nitrogen stable isotope data in reproducibility and accuracy than the data obtained by the other method. In addition, through the auxiliary automatic trace nitrogen conversion- N_2O generated device, nitrogen stable isotope abundance of soil ammonium nitrogen could be simultaneously analysis online in batch process, and the pretreatment analysis time was short, the sample consumption was small, only need 10 μg N for one sample (<5 mL soil extract solution). Therefore, for the analysis of nitrogen isotopes in micro-amounts of soil ammonium, the N_2O produced method coupled with PreCon-IRMS analysis method has more advantages than the diffusion method coupled Flash HT-IRMS analysis method.

Key words: soil ammonium nitrogen; isotope ratio mass spectrometer (IRMS); nitrogen isotope; diffusion method; N_2O produced method

稳定同位素示踪技术已广泛应用于土壤氮素研究,包括土壤有机氮矿化、无机氮转化、固持和移动等多个过程^[1-3]。土壤中铵态氮以铵根离子(NH_4^+)形态存在,该形态是土壤无机态氮的主要形式之一,也是土壤有机氮化合物矿化转化的终产物^[4-6]。采用稳定氮同位素示踪法研究土壤氮素输入、迁移和转化过程时,准确定量土壤提取液中无机态 NH_4^+ 的 ^{15}N 丰度非常重要^[1,7]。然而,土壤提取液中的 NH_4^+ 不能直接进行稳定氮同位素质谱检测,需要相应的前处理转化。前处理方法的精确与否通常会影响质谱分析结果的准确度,因此,在建立土壤铵态氮中氮同位素的质谱分析技术时,样品的前处理方法非常关键^[7-8]。

目前,常用的前处理方法有蒸馏法、扩散法

及 N_2O 产生法^[7,9-13]。蒸馏法是土壤提取液中的 NH_4^+ 通过蒸馏被硫酸溶液接收形成铵盐,浓缩后的铵盐可用杜马法转化为 N_2 后进入稳定同位素质谱仪或通过元素分析仪-稳定同位素质谱仪进行 ^{15}N 丰度检测^[9]。扩散法是土壤提取液中的 NH_4^+ 在 MgO 催化扩散下转化成 NH_3 后被含有硫酸氢钾的滤膜吸收,滤膜可通过元素分析仪-稳定同位素质谱仪进行 ^{15}N 丰度检测^[10-11]。 N_2O 产生法是用化学方法将土壤中微量铵转化为 N_2O 气体,然后用带自动预浓缩装置的同位素比值质谱仪测定 N_2O 中的 ^{15}N 丰度^[12-13]。其中,蒸馏法效率较高、处理时间短,但需要专门的设备且处理步骤复杂,需要熟练的操作人员,因此应用相对较少。扩散法所需时间较长,但仪器及操作过程简单,可对样品进

行批量处理^[11]。N₂O产生法兼具了蒸馏法处理时间短及扩散法批量处理样品的优点,但操作过程相对复杂,需要熟练的操作人员^[7,13]。

目前,还未见土壤铵态氮中氮同位素分析中两种前处理方法——扩散法和N₂O产生法的比较报道。本研究拟采用扩散法和N₂O产生法对不同类型稻田土壤的铵态氮进行前处理,利用本实验室研制开发的自动化装置替代原N₂O产生法中部分人工操作环节,比较两种前处理方法对样品氮稳定同位素测试的准确度和精密度的影响,旨在建立一种最佳的土壤铵态氮批量前处理方法,实现低样品量下土壤铵态氮中稳定氮同位素质谱的准确、快速检测。

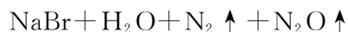
1 实验部分

1.1 方法原理

扩散法:在密闭条件下,NH₄⁺与MgO通过扩散反应生成NH₃,NH₃被含有硫酸氢钾的滤膜吸收。通过元素分析仪-稳定同位素质谱仪联用测定干燥后滤膜的¹⁵N丰度,涉及的化学反应为:



N₂O产生法:在真空条件下,NH₄⁺与碱性次溴酸钠反应,主要产生氮气,另外产生一部分N₂O。产生的N₂O被Cu²⁺催化并与pH有关,碱性次溴酸钠中NaOH浓度为10 mol/L。用痕量气体预浓缩装置-稳定同位素质谱仪联用测定N₂O的¹⁵N丰度,涉及的化学反应为:



1.2 主要仪器与装置

Flash HT元素分析仪:配备有ConFlo IV连续流模式同位素质谱仪的万用接口;MAS200R固体自动进样器,锡杯(5 mm × 8 mm);氧气、N₂参比气(气体纯度均大于99.999%)。反应管填充物:石英反应管、氧化铬(催化氧化)、镀银氧化钴(除硫)、线状铜(还原NO)。

Precon痕量气体预浓缩装置:配备T1~T3冷阱;Combi PAL自动进样器;96位气体样品盘;顶空瓶(10 mL);化学阱(填充高氯酸

镁和碱石灰);poraPlot Q色谱柱;N₂O参比气(气体纯度均>99.999%)。

MAT253稳定同位素质谱仪;高灵敏度电子轰击离子源;10 kV加速电压;C/N法拉第杯。质谱仪主机与外部设置的系统控制、数据采集和处理均由Isodat NT软件自动完成。

以上仪器均为美国Thermo Fisher Scientific公司产品。

全自动微量氮转化-N₂O发生装置:配备自动进样器;120位气体样品盘(与10 mL顶空瓶匹配);自动气体置换及注入系统和自动加液系统等。该套装置为本实验室研制开发(已申请专利,专利号:2018114796378)。

1.3 主要材料与试剂

1.3.1 试剂和材料 碱性次溴酸钠配制:10 mol/L氢氧化钠的次溴酸钠溶液(含2 mmol/L Cu²⁺)。硫酸氢钾溶液(2.5 mol/L)配制:添加7 mL浓硫酸于50 mL去离子水中,加入22 g K₂SO₄加热超声溶解后,转移至容量瓶定容至100 mL。氯化钾溶液(1 mol/L)配制:准确称取74.5 g氯化钾(分析纯,使用前在450 °C下煅烧48 h除去杂质后,保存在干燥器内,待用)于300 mL去离子水中,充分搅拌溶解后,转移至容量瓶定容至1 000 mL。氧化镁:纯度≥99.5%,使用前在550 °C灼烧1 h使氧化镁中可能存在的碳酸镁转化为氧化镁,然后置于干燥器中保存,待用。¹⁵N-硫酸铵标准品:¹⁵N丰度为10.1 atom%,纯度≥99.5%;硫酸铵标准品:¹⁵N丰度为0.362 atom%,纯度≥99.5%,均为Sigma-Aldrich公司产品。硫酸铵参比溶液:将两种¹⁵N丰度的硫酸铵标准样品均配制成浓度为10、50 mg/L氮系列参比溶液,再用低丰度标准溶液作为稀释剂,将10.1 atom% ¹⁵N标准溶液配制成¹⁵N丰度为1.0 atom%左右的参比溶液,经标定其准确值为(0.90±0.01) atom%。校准曲线工作溶液:用低丰度标准溶液作为稀释剂,将10.1 atom% ¹⁵N标准溶液配制成¹⁵N丰度分别约为0.36 atom%、2.0 atom%、4.0 atom%、8.0 atom%的标准工作溶液,并同时标定其准确值,该工作溶液用于对扩散前处理氮同位素分馏的校正。

滤膜包:由玻璃纤维GF/D型滤片(Cat No. 1823-142, Watman)及生料带(Z211880,

Sigma-Aldrich) 组装而成。使用时, 先将玻璃纤维滤片用打孔器做成直径为 0.7 cm 的小圆片, 吸取 20 μL 硫酸氢钾溶液滴于该小圆滤片上, 用生料带(防水通气)将小圆滤片包裹并压实, 置于干净密封袋中保存, 待用。

1.3.2 供试土壤样品 除用单一形态氮的参比溶液比较两种前处理方法对土壤铵态氮中

氮稳定同位素丰度测定的影响外, 还制备了土壤提取液样品验证两种实验系统的可行性。土壤样品分别采自中国科学院亚热带农业生态研究所长沙农业环境观测研究站(S1)和湖南宁乡国家级稻田肥力变化长期定位试验点不同母质发育的稻田土壤(S2), 采样点及土壤基本理化性质等情况列于表 1。

表 1 供试土壤基本信息
Table 1 Basic properties of tested soil

土壤编号 Soil number	采样地 Sampling site	植被类型 Vegetation type	成土母质 Parent material	有机碳 Organic carbon/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)	阳离子交换量 Cation exchange capacity/ (cmol/kg)
S1	长沙-金井	水稻	第四纪红壤	18.5	1.62	0.43	7.71
S2	湖南-宁乡	紫云英/水稻	河流冲积物	23.4	2.44	0.81	11.57

土壤提取液的制备: 土壤样品经研磨后过 2 mm 筛(土壤含水量 30%), 称取 100 g 于 500 mL 培养瓶中, 加入 5 mg 氮标记的硫酸铵(^{15}N 丰度为 10.1 atom%), 充分混匀后, 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 4 h, 每种类型土壤重复 3 次, 同时做不添加对照。处理后的土壤以土液质量比 1:10 加入 1 mol/L KCl 溶液, 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 以 180 r/min 振荡 1 h, 过滤液保存在冰箱(-20 $^{\circ}\text{C}$)中, 待测。采用全自动连续流动分析仪测定滤液中的铵态氮(NH_4^+-N)含量。

1.3.3 参比气体 为获得准确的测定结果, 在元素分析仪或者气体预浓缩装置-稳定同位素质谱仪联用进行氮同位素比值测定时, 需要提前对高纯 N_2 和 N_2O 气体参比气进行定值校准。其中 N_2 参比气通过国际原子能机构的硫酸铵和尿素稳定同位素标准样品进行标定, $\delta^{15}\text{N}_{\text{Air}} = (-4.730 \pm 0.020)\%$ (Air 系空气氮, 下同), 标定值可溯源至国际标准物质 IAEA305a 和 IAEA 310a; N_2O 参比气则委托南京土壤所稳定同位素实验室进行标定, 标定值可溯源至日本 Shoko 有限公司的 N_2O 标准气体, 该 N_2O 参比气体的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Air}}\%$ = (6.008 \pm 0.020)%。

1.4 实验条件

1.4.1 扩散法 取 25 mL 土壤浸提液于 100 mL 玻璃瓶中, 用镊子将滤膜包置于反应瓶中。

称取 75 mg MgO (按照 3 g/L 用量)加入反应瓶中, 并迅速加内塞及铝盖密封(防止因 MgO 和 NH_4^+ 反应产生气体逸散); 将反应瓶放置在 37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床中, 以 90 r/min 反应 6 天。反应结束后, 用镊子将滤膜包取出, 并用去离子水反复冲洗干净后, 置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 干燥箱中干燥 8 h。干燥后, 将滤膜包中的滤片用镊子弄碎, 包入锡杯(5 mm \times 8 mm)中, 待测。

同时, 吸取一定量的 ^{15}N 系列参比溶液于反应瓶中, 参比溶液中氮含量分别为 10、50、100 μg , 每组参比样品重复 3 次。扩散反应条件和操作同土壤浸提液, 将干燥后的参比样品包入锡杯中, 待测。

待测样品和参比样品中 $^{15}\text{N}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 丰度通过元素分析仪-稳定同位素质谱仪测定, 其仪器工作条件为: 元素分析仪燃烧反应管温度 960 $^{\circ}\text{C}$; 色谱柱温度 50 $^{\circ}\text{C}$; 气体流速: O_2 为 175 mL/min, 载气 He 为 88~90 mL/min, 吹扫气 He 为 200 mL/min。待仪器稳定后, 将样品锡杯置于 MAS200R 固体自动进样器上, 样品经元素分析仪的进样口进入反应管, 含 N 物质在催化剂作用下经燃烧反应生成氮氧化物, 最后再被还原铜还原成 N_2 。含 N_2 的混合气通过气相色谱柱分离, 依次通过 ConFlo IV 导入稳定同位素质谱仪的离子源内, 检测 N_2 中的 N 得到 ^{15}N 同位素丰度。

1.4.2 N₂O产生法 取 5 mL 土壤浸提液于 10 mL 顶空反应瓶中, 封上带有透气孔的瓶盖, 于 -20 °C 低温冰箱中预冻 10 h 后, 在冷冻干燥机上冷冻干燥 24 h。取出样品瓶盖上密封瓶盖, 转移至全自动微量氮转化-N₂O发生装置中抽真空, 注入一定量的惰性 He 气; 连接自动加液系统向反应瓶中加入 1 mL 10 mol/L NaOH的次溴酸钠溶液, 摇匀, 反应生成 N₂O 气体。

同时吸取一定量的 ¹⁵N 系列参比溶液于 10 mL 顶空反应瓶中, 反应瓶中参比溶液的氮含量分别为 10、50、100 μg, 每组参比样品重复 3 次。后续 N₂O 转化反应条件和操作同土壤浸提液。

顶空瓶中气体 ¹⁵N-N₂O 丰度可直接用配有气体预浓缩装置的稳定同位素质谱仪测定, 其工作条件为: 预浓缩装置气体流速 (He 载气 20 mL/min), 冷阱 T2 浓缩时间 180 s, 冷阱 T3 浓缩时间 300 s, 色谱柱温度 50 °C。待仪器稳定后, 将气体样品置于 Combi PAL 自动进样器上, 气体样品经化学阱除去大部分水气及二氧化碳干扰气体后, 依次通过 T2/T3 冷阱浓缩。浓缩后含 N₂O 的混合气通过气相色谱柱分离, 依次进入稳定同位素质谱仪的离子源内, 检测 N₂O 中的 N, 得到 ¹⁵N 同位素丰度。

2 结果与讨论

2.1 扩散法和 N₂O 产生法测定铵态氮中 ¹⁵N 的准确度和精密度

不同氮含量的标准参比溶液分别采用扩散反应和 N₂O 产生法进行前处理, 处理后的含氮物质经稳定同位素质谱仪检测 ¹⁵N 丰度, 检测结果列于表 2。其中, 扩散法处理的低丰度硫酸铵参比系列的 ¹⁵N 丰度测定值为 0.362% ~ 0.363%, 与标准品参比值一致; 富集样品硫酸铵参比系列的 ¹⁵N 丰度测定值为 0.872% ~ 0.886%, 与参比值 (0.90%) 差异较大, 出现了明显的同位素分馏现象。此外, 扩散法在所有参比系列样品上均获得了较好的精密度 0.22% ~ 0.47% (CV < 0.5%), 仅氮含量为 10 μg 的样品测量精度稍差。Lory 等^[8] 在首次采用扩散法替代传统蒸馏法用于对低含量无机铵盐的氮稳定同位素质谱分析前处理时也发现了氮同位素分馏问题, ¹⁴NH₃ 和 ¹⁵NH₃ 之间的质量差异产生的不完全扩散导致较重物质转移较小。这种同位素分馏效应广泛存在于微扩散法中, 且不同 ¹⁵N 丰度的样品同位素分馏情况存在差异。因此, 在采用扩散法预处理样品时, 需根据待测样品 ¹⁵N 丰度的范围建立标准曲线对实际样品处理过程中的氮同位素分馏情况进行校正。

表 2 扩散法和 N₂O 产生法测定铵态氮中 ¹⁵N 的准确度和精密度

Table 2 Accuracy and precision of ¹⁵N abundance of NH₄⁺-N by diffusion method and N₂O produced method

方法 Method	NH ₄ -N 的 氮含量/μg	¹⁵ N 丰度参比值 Reference value	¹⁵ N 丰度测量值 Measurement value			¹⁵ N 丰度平均值 Average value	精密度 CV/%
扩散法	10	0.36	0.361	0.364	0.363	0.363	0.47
	50		0.363	0.364	0.362	0.363	0.22
	100		0.362	0.363	0.361	0.362	0.27
	10	0.90	0.876	0.868	0.870	0.872	0.45
	50		0.886	0.888	0.883	0.886	0.29
	100		0.887	0.885	0.886	0.886	0.14
N ₂ O 产生法	10	0.36	0.363	0.363	0.362	0.363	0.16
	50		0.363	0.363	0.362	0.363	0.16
	100		0.362	0.363	0.363	0.363	0.16
	10	0.90	0.904	0.903	0.901	0.903	0.18
	50		0.902	0.902	0.903	0.902	0.05
	100		0.901	0.902	0.902	0.902	0.06

N_2O 产生法前处理的低丰度和富集 ^{15}N -硫酸铵参比样品 ^{15}N 丰度测定值分别为0.363%和0.902%~0.903%，均与标准品的参比值一致，且测试精度较高，为0.05%~0.16% ($CV < 0.2\%$)。特别是含氮量低(10 μg)的样品也能获得理想的测试准确度和精度，且不存在同位素分馏情况。本研究结果与曹亚澄等^[7]通过 N_2O 产生法测定铵态氮 ^{15}N 丰度的结果一致， N_2O 中的 ^{15}N 丰度测量值完全符合铵盐的 ^{15}N 参考值。另外，本研究采用冷冻干燥浓缩处理土壤浸提液，并通过全自动微量氮转化- N_2O 发生装置替代文献^[7]中的蒸馏浓缩和手工操作过程，获得的 ^{15}N -硫酸铵的氮丰度测试精密度优于文献^[7]的测试精密度(0.1%~0.7%)。新的前处理过程结合自动化辅助装置大大提高了前处理效率，减少了人工操作过程，降低了测试精密度对人员操作熟练程度的依赖，在氮含量

低的条件下也可获得满意的分析测试结果。

2.2 扩散法和 N_2O 产生法测定土壤浸提液铵态氮中 ^{15}N 丰度

两种不同类型稻田土壤的铵态氮含量及 ^{15}N -铵态氮丰度的测定结果列于表3。结果表明，扩散法前处理测定两种类型稻田土壤浸提液铵态氮中 ^{15}N 丰度，经过标准曲线校正后与 N_2O 产生法的结果一致，且3个测试重复之间的结果差异较小，为0.001%~0.12%。

两种类型稻田土壤在添加 ^{15}N 处理后，其铵态氮含量和 ^{15}N -铵态氮丰度存在较大差异，主要来源于不同类型土壤对铵态氮的吸附转化及本底铵态氮含量之间的差异^[7,9,11]。比较两种类型稻田土壤，S1土壤本底值高，土壤本底铵态氮对添加 ^{15}N 硫酸铵有稀释作用，可能导致S1土壤的 ^{15}N -铵态氮丰度测定结果相对较低。

表3 扩散法和 N_2O 产生法测定两种不同类型稻田土壤浸提液铵态氮中 ^{15}N 丰度

Table 3 ^{15}N abundance of ammonium nitrogen in extractions of the two paddy soils by diffusion and N_2O produced method

土壤类型 Soil types		不添加 ^{15}N 处理 Not added ^{15}N			添加 ^{15}N 处理 Added ^{15}N		
		NH_4-N / (mg/L)	扩散法* Diffusion*	N_2O 产生法 N_2O produced	NH_4-N / (mg/L)	扩散法* Diffusion*	N_2O 产生法 N_2O produced
S1	S1-1	3.14	0.381	0.380	12.0	7.19	7.02
	S1-2	3.08	0.379	0.382	12.0	7.14	7.15
	S1-3	3.11	0.381	0.381	12.2	6.96	7.12
	平均值	3.11	0.380	0.381	12.0	7.10	7.10
	SD	0.03	0.001	0.001	0.11	0.12	0.07
S2	S2-1	1.48	0.401	0.403	9.72	7.52	7.59
	S2-2	1.51	0.403	0.401	9.56	7.59	7.56
	S2-3	1.53	0.404	0.405	9.95	7.51	7.52
	平均值	1.50	0.403	0.403	9.75	7.54	7.56
	SD	0.03	0.002	0.002	0.27	0.04	0.03

注：扩散法表示 ^{15}N -铵态氮丰度为经过标准曲线校正后的结果；

加粗字体表示2种土壤类型在不同处理间3个重复样品测定值的平均值和标准偏差SD值

3 结论

扩散法和 N_2O 产生法是目前应用较广泛的土壤铵态氮 ^{15}N 同位素丰度测定前处理方法。采用扩散法和 N_2O 产生法，分别通过元素分析仪-稳定同位素质谱仪(Flash HT-IRMS)和气

体预浓缩-稳定同位素质谱仪(PreCon-IRMS)测定了标准硫酸铵中 ^{15}N 同位素丰度。两种分析方法测定相同参比样品 ^{15}N 同位素丰度均能获得较理想的分析精度，且在低 ^{15}N 同位素丰度样品下的结果差异较小，结果具有可比性。但

对高¹⁵N同位素丰度样品,扩散法前处理过程会产生一定程度的同位素分馏现象,而N₂O产生法前处理则无分馏现象发生,测试结果与参比样品的标定值一致。因此,在采用扩散法预处理样品时,需要根据待测样品¹⁵N丰度的范围建立标准曲线,对实际样品处理过程中的氮同位素分馏情况进行校正。

同时采用扩散法和N₂O产生法测定不同类型稻田土壤浸提液铵态氮中氮稳定同位素丰度发现,N₂O产生法测定氮同位素丰度的准确性和精密性优于扩散法。改进后的N₂O产生法结合辅助的全自动微量氮转化-N₂O发生装置的前处理分析时间短、样品消耗量少,可实现在线批量分析土壤浸提液铵态氮预处理。因此,对于土壤中微量铵态氮中氮稳定同位素丰度测定的分析,N₂O产生法与PreCon-IRMS法联用更具优势。

参考文献:

- [1] PETERSON B J, FRY B. Stable isotopes in ecosystem studies[J]. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 1987, 18: 293-320.
- [2] ROBINSON D. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2001, 16(3): 153-162.
- [3] 袁红朝,葛体达,陈晓娟,张丽萍,王久荣. 稳定同位素质谱技术在生态系统氮素循环中的应用[J]. *质谱学报*, 2015, 36(1): 91-96.
YUAN Hongzhao, GE Tida, CHEN Xiaojuan, ZHANG Liping, WANG Jiurong. Application of stable isotope ratio mass spectrometry in the ecology of nitrogen cycle[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2015, 36(1): 91-96 (in Chinese).
- [4] FRANCIS STUART C, PAMELA A M, HAROLD A M. *Principles of terrestrial ecosystem ecology*[M]. Springer, 2011.
- [5] 黄莉,王建伟,吴运泽,夏文倩,余莉,付帅,杨再婷. 黔东南州稻田土壤硝态氮和铵态氮含量评价[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(5): 96-98.
HUANG Li, WANG Jianwei, WU Yunze, XIA Wenqian, YU Li, FU Shuai, YANG Zaiting. Evaluation of soil nitrate nitrogen and ammonium nitrogen in rice fields of qiandongnan prefecture [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45(5): 96-98(in Chinese).
- [6] 贺纪正,张丽梅. 土壤氮素转化的关键微生物过程及机制[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(1): 98-108.
HE Jizheng, ZHANG Limei. Key processes and microbial mechanisms of soil nitrogen transformation[J]. *Microbiology*, 2013, 40(1): 98-108 (in Chinese).
- [7] 曹亚澄,钟明,龚华,陆国兴. N₂O产生法测定土壤无机态氮¹⁵N丰度[J]. *土壤学报*, 2013, 50(1): 113-119.
CAO Yacheng, ZHONG Ming, GONG Hua, LU Guoxing. Determining ¹⁵N abundance in ammonium, nitrate and nitrite in soil by measuring nitrous oxide produced[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2013, 50(1): 113-119(in Chinese).
- [8] LORY J A, RUSSELLE M P. Evaluation of a diffusion method for preparing low-nitrogen samples for nitrogen-15 analysis[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1994, 58(5): 1 400-1 404.
- [9] HERMAN D J, BROOKS P D, ASHRAF M, AZAM F, MULVANEY R L. Evaluation of methods for nitrogen analysis of inorganic nitrogen in soil extracts. II. Diffusion methods[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1995, 26(11/12): 1 675-1 685.
- [10] MACKOWN C T, BROOKS P D, SMITH M S. Diffusion of nitrogen-15 kjeldahl digests for isotope analysis[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1987, 51(1): 87-90.
- [11] KEENEY D R, BREMNER J M. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 6. mineralizable nitrogen [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1967, 31(1): 34-39.
- [12] LAUGHLIN R J, STEVENS R J, ZHUO S. Determining nitrogen-15 in ammonium by producing nitrous oxide[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61(2): 462-465.
- [13] STEVENS R J, LAUGHLIN R J. Determining nitrogen-15 in nitrite or nitrate by producing nitrous oxide[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1994, 58: 1 108-1 116.