

土壤微生物量氮测定方法

(氯仿熏蒸硫酸钾提取法 流动分析仪)

一、方法原理

土壤微生物态氮是土样在 CHCl_3 熏蒸后直接浸提氮含量，并进行测定，以熏蒸和不熏蒸土壤中总氮的差值为基础计算土壤微生物量氮。

二、主要仪器

振荡机、真空干燥器、真空泵、连续流动分析仪。

三、试剂

1. 稀释水和系统冲洗液：取 30%Brij-35 溶液 2 mL，加去离子水至 1000 mL。
2. 吸样器冲洗液：使用未加表面活性剂的纯水，如果测定土壤浸提液或其它不溶于水的物质，应使用浸提剂作为吸样器冲洗液。

三、试剂

1. 缓冲溶液：溶解 40 g 柠檬酸三钠到约 600 mL 水中，稀释到 1 L，混匀后加 1 mL Brij-35。每周配一次。
2. 水杨酸钠：溶解 40 g 水杨酸钠到约 600 mL 水中，加 1 g 硝普钠，稀释到 1 L，混匀。每周配一次。
3. DCI (二氯异氰酸钠)：溶解 20 g 氢氧化钠和 3 g DCI 到约 600 mL 水中，混匀后稀释至 1 L。稳定 1 周。参看操作注意事项 4。
4. 稀释水和吸样器冲洗液：如果使用稀释操作，用含 $2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ Brij-35、曲拉通、或 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 十二烷基硫酸钠。
5. 吸样器冲洗液：使用不含表面活性物质的纯水，如果分析土壤浸提液或其它不溶于水的样品，使用样品浸提剂做为吸样器冲洗液。

6. $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+\text{-N}$ 标准溶液: 称硫酸铵 (A. R) 4.717 g 溶于蒸馏水中定容 1000 mL。

根据需要配制标准曲线, 如果分析土壤浸提液或其它不溶于水的样品, 使用样品浸提剂稀释标准溶液。

7. 氯仿 (去乙醇)。

8. $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_2\text{SO}_4$ 浸提液。

9. 氧化剂溶液: 将 6 g NaOH 和 30 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 用水溶解后定容至 1 L。

四、操作步骤

称取过 2 mm 筛的新鲜土样 12.5 g 六份, 置于小烧杯中。将其中三份小烧杯放入真空干燥器中, 干燥器底部放 3 个烧杯, 其中一个放氯仿, 烧杯内放少许玻璃珠 (防爆), 另一个放水 (保持湿度), 再放一杯稀 NaOH。抽真空时, 使氯仿剧烈沸腾 3-5 min, 关掉真空干燥器阀门, 在暗室放置 24 h。熏蒸结束后, 打开干燥器阀门, 取出氯仿, 在通风厨中使氯仿全部散尽。另三份土壤放入另一干燥器中, 但不放氯仿。

将熏蒸的土样全部转移至 150 mL 三角瓶中, 加入 50 mL $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_2\text{SO}_4$ (土水比为 1:4), 振荡 30 min, 过滤。未熏蒸土样操作相同, 同时做空白。滤出的浸提液测定微生物量氮。测定方法如下:

流动分析仪法

土壤熏蒸后, 用 K_2SO_4 浸提液后, 震荡、过滤、用连续流动分析仪测定滤液中的铵态氮。氯仿熏蒸后, 死亡微生物的部分氮素会以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 形式释放而被 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_2\text{SO}_4$ 浸提出来; 而未熏蒸的 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_2\text{SO}_4$ 浸提的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 中不包括这部分。 $\text{NH}_3^+\text{-N}$ 中不包括这部分。因此熏蒸与不熏蒸的铵态氮之差, 是熏蒸所造成的氮增量。

五、结果计算

流动分析仪法

土壤微生物量氮 = (熏蒸土壤微生物量氮 - 未熏蒸土壤微生物量氮) / 0.25

微生物体氮的矿化系数 K 为 0.25, 即矿化出来的微生物体氮仅是微生物体总氮的 0.25 倍。

六、参考文献

1. 杨绒, 赵满兴, 周建斌. 过硫酸钾氧化法测定溶液中全氮含量的影响条件研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33 (12) : 107~111.
2. 陈国潮, 何振立, 祝军, 章明奎. 红壤微生物量氮的测定研究[J]. 土壤通报, 1998, 29 (4) : 185~187.
3. 李世清, 李生秀. 土壤微生物体氮测定方法的研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2000, 6 (1) : 75~83.
4. 宋建国, 王晶, 林杉. 用连续流动分析仪测定土壤微生物态氮的方法研究[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5 (3) : 282-287.
5. Paul EA and Juma NG. Mineralization and immobilization of soil nitrogen by microorganisms. In: Clark FE and Rosswall T (eds), Terrestrial nitrogen cycles Ecological Bulletins (Stockholm), 1981, 33 : 179~195.