DOI:10.12119/j.yhyj.202004008

基于元素分析仪测定土壤有机碳的不同前处理方法对比研究

闵秀云[1,2,3],武　君[1,2],高春亮[1,2],徐黎明[1],李雷明[1,2,3],王　枫[2]
(1. 中国科学院青海盐湖研究所,中国科学院盐湖资源综合高效利用重点实验室,青海 西宁　810008;
2. 青海省盐湖地质与环境重点实验室,青海 西宁　810008;3. 中国科学院大学,北京　100049)

摘　要:采用元素分析仪测定土壤标准样品中的有机碳含量,对比了银杯法、离心法和过滤法 3 种不同的前处理方法对测定结果的影响。以 N－甲基邻苯二甲酰亚胺为加标物质,按 3 个不同水平加入到土壤标准样品中,开展了加标回收实验。研究结果表明,采用 3 种不同方法处理土壤标准物质后,其有机碳测试结果的相对标准偏差均小于 9%,说明 3 种前处理方法均适用于土壤有机碳含量的测试。其中,离心法和过滤法的相对偏差均小于 4%,其准确度和重现性优于银杯法,测试结果也更接近土壤有机碳含量真实值。离心法和过滤法的加标回收率分别为 79.97% ~102.09%和 79.56 ~101.42%,明显高于银杯法的加标回收率(43.14% ~69.10%)。研究结果表明,基于元素分析仪测定土壤有机碳的 3 种前处理方法中,过滤法最为准确和可靠。

关键词:元素分析仪;土壤有机碳;银杯法;离心法;过滤法
中图分类号:O657;S153.6　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1008－858X(2020)04－0064－07

近几十年来,土壤有机碳备受关注,成为土壤学和环境学领域的研究热点之一。土壤有机碳对碳汇、全球碳循环、温室效应、全球气候变化和土壤生态系统等研究都具有重要意义。土壤有机碳含量测定的不确定性会影响其在土壤学、环境学和生态学领域的潜力评估。因此,快速而准确测定土壤有机碳含量在土壤和环境研究方面具有十分重要的意义。

根据测定原理不同,土壤有机碳测定可分为化学氧化法和燃烧法两类。化学氧化法具有不受土壤碳酸盐的影响、成本较低、易操作和易实现等优点,但该方法测试过程中大量消耗硫酸、重铬酸钾等有毒有害试剂,并产生大量的废液,易造成环境污染。当土壤中含有还原性物质或氯化物时会影响其测定结果,并且受实验条件的限制,不利于大批量样品的快速测定。燃烧法具有操作快捷、分析时间短、样品用量少、精密度、准确度和重现性高等优点,但去除无机碳残留的酸会影响仪器的使用寿命,且仪器价格昂贵,不易广泛使用[1－7]。值得一提的是,国内外学者开展了不同方法测定土壤有机质含量的研究工作,并指出基于不同方法其测定结果存在一定的偏差,各方法的重现性、精确度和准确度也存在差异[8－14]。

近年来,总有机碳分析仪和元素分析仪因其仪器检出限低,前处理方法简单,样品用量小,测量快速和重现性好等优点,被应用于土壤总碳和总有机碳含量的测定[15－16]。本文通过选取 3 种不同的前处理方法,用 HCl 溶液去除土壤中的无机碳,运用元素分析仪测试土壤有机碳含量。通过对比 3 种不同方法去除土壤无机碳后,元素分析仪测得的土壤标准样品有机碳含量和方法的加标回收率,探讨了不同前处理方法的准确性和重现性。本项研究将会为开展土壤有机碳测定提供方法参考,为土壤有机碳估算提供更为准确的研

收稿日期:2018－08－14;**修回日期**:2018－08－22
基金项目:青海省“高端创新人才千人计划”(培养拔尖人才)项目;青海省应用基础研究项目(2016－ZJ－755);中国科学院西部之光“B”类项目及中国科学院功能开发项目
作者简介:闵秀云(1987－),女,博士,项目副研究员,主要从事环境地球化学研究工作。Email:minxy@isl.ac.cn。
通信作者:武　君(1980－),女,博士,研究员,博士生导师,主要从事环境地球化学研究工作。Email:junwu@isl.ac.cn。

究数据,并进一步为全球碳循环、全球气候变化和土壤生态环境的研究提供可靠的依据。

1　材料与方法

1.1　实验样品和仪器

2017 年 6 月,在青海省东北部地区采集表层土壤样品(深度为 1 ~ 20 cm)20 个。采集的土壤样品通过混合均匀后,在实验室置于干净的表面皿中自然风干,挑出肉眼可见的植物根系。风干后的土壤样品用玛瑙研磨后过 200 目筛,然后将样品装入玻璃样品瓶中备用。

实验选用土壤成分分析标准物质(GBW07424,中国标准物质中心),壤土 TOC/TC 标准物质(B2186,英国元素微量分析有限公司)以及 4 个土壤地矿物碳氮系列标准物质(IVA99994、IVA99995、IVA99996 和 IVA99997)作为本次实验所用的土壤标准样品。选用 N - 甲基邻苯二甲酰亚胺($C_9H_7NO_2$,阿拉丁试剂上海有限公司,纯度 > 99%)作为有机碳的加标物质添加至土壤标准样品中。选用乙酰苯胺(GBW06201,中国标准物质中心)标准物质作为元素分析仪的校正标样。此外,蔗糖($C_{12}H_{22}O_{12}$,美国力可公司)、盐酸(优级纯,北京化工厂)和超纯水(电阻率≥18.25 MΩ·cm)也是实验过程中所需试剂。

分析仪器:元素分析仪(德国 Elementar 公司,vario EL cube),额定电压 230 ± 23 V,工作环境温度 15 ~ 30 °C,气体 He ≥ 99.996%,O_2 ≥ 99.995%;多管架自动平衡离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,L530);循环水式真空泵(上海力辰邦西仪器科技有限公司,SHZ - S(Ⅲ)ABS 型)。

1.2　土壤有机碳测定的不同前处理方法

不同的前处理方法主要体现在利用 HCl 溶液去除土壤无机碳的过程,分别为以下 3 种方法。

银杯法:称取约 10.000 mg 土壤样品(精确到 0.001 mg)于银杯中,将银杯放置于 100 孔的不锈钢板上;滴加 1 mol/L 的 HCl 溶液直至无气泡产生,静置 24 h;然后向每个样品中加入 100 μL 超纯水;最后置于 70 °C 烘箱中烘 12 h,用锡舟包裹样品,利用元素分析仪测定土壤有机碳含量该方法(简称为 SOC1)。

离心法:称取约 0.5000 g 土壤样品(精确到 0.0001 g)于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 1 mol/L的 HCl 溶液,静置 24 h;用离心机反复清洗样品直至中性后,置于 70 °C 烘箱中烘 12 h;取出样品装入玻璃瓶中,称取 10.000 mg(精确到 0.001 mg)样品,用锡舟包裹压实,利用元素分析仪测定土壤有机碳含量(该方法简称为 SOC2)。

玻璃纤维滤纸过滤法(过滤法):称取约 0.5000 g土壤样品(精确到 0.0001 g)于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 1 mol/L 的 HCl 溶液,静置 24 h;随后用循环水式真空泵和 0.7 μm 玻璃纤维滤纸(Wathman,直径 47 mm)抽滤,用超纯水反复冲洗至中性,置于 70 °C 烘箱中烘 12 h;取出样品装入玻璃瓶中,称取 10.000 mg(精确到0.001 mg)用锡舟包裹压实,利用元素分析仪测定土壤有机碳含量(该方法简称为 SOC3)。

为了确保测量的准确性,每个样品测量 2 次,以平均值作为最后的测定结果。

2　实验部分

2.1　仪器的精密度和准确度测定

分别称取乙酰苯胺(GBW06201)和蔗糖($C_{12}H_{22}O_{12}$,编号 A2021)两个标准物质约 3.000 mg(精确到0.001 mg)各 10 个,用于测定元素分析仪的精密度和准确度。

2.2　土壤标准样品有机碳测定

实验选用土壤成分分析标准物质(GBW07424),壤土 TOC/TC 标准物质(B2186)以及 4 个土壤地矿物碳氮系列标准物质(IVA99994、IVA99995、IVA99996、和 IVA99997)作为本次实验的土壤标准样品。每个土壤标准样品分别称取 9 份,分别按前文所述的 3 种不同前处理方法去除土壤无机碳,每种方法做 3 个平行样对比分析,再利用元素分析仪测定其有机碳含量,每个样品测量 2 次,以平均值作为最后测定结果。

2.3 不同前处理方法的加标回收率实验

选用壤土 TOC/TC 标准物质(B2186)作为土壤标准样品,以 N - 甲基邻苯二甲酰亚胺($C_9H_7NO_2$)为加标物质,按表 1 所设计的回收率实验方案称取土壤标准样品和 N - 甲基邻苯二甲酰亚胺的重量。然后分别按 3 种不同步骤进行前处理实验,最后利用元素分析仪测定其有机碳含量,用于计算 3 种不同前处理方法的回收率。

表 1 加标回收率实验方案

Table 1 The experimental program of adding standard recovery

银杯法			离心法			过滤法		
编 号	土壤/g	$C_9H_7NO_2$/g	编号	土壤/g	$C_9H_7NO_2$/g	编号	土壤/g	$C_9H_7NO_2$/g
M10 - 1	0.010	0.000	M20 - 1	0.500	0.000	M30 - 1	0.500	0.000
M10 - 2	0.010	0.000	M20 - 2	0.500	0.000	M30 - 2	0.500	0.000
M10 - 3	0.010	0.000	M20 - 3	0.500	0.00	M30 - 3	0.500	0.000
M11 - 1	0.010	0.0005	M21 - 1	0.500	0.0250	M31 - 1	0.500	0.0250
M11 - 2	0.010	0.0005	M21 - 2	0.500	0.0250	M31 - 2	0.500	0.0250
M11 - 3	0.010	0.0005	M21 - 3	0.500	0.0250	M31 - 3	0.500	0.0250
M12 - 1	0.010	0.001	M22 - 1	0.500	0.050	M32 - 1	0.500	0.050
M12 - 2	0.010	0.001	M22 - 2	0.500	0.050	M32 - 2	0.500	0.050
M12 - 3	0.010	0.001	M22 - 3	0.500	0.050	M32 - 3	0.500	0.050
M13 - 1	0.010	0.002	M23 - 1	0.500	0.100	M33 - 1	0.500	0.100
M13 - 2	0.010	0.002	M23 - 1	0.500	0.100	M33 - 2	0.500	0.100
M13 - 3	0.010	0.002	M23 - 3	0.500	0.100	M33 - 3	0.500	0.100

2.4 实际土壤样品分析测定及数据分析

按 3 种不同的方法对实际采集的 20 个表层土壤样品进行前处理,用元素分析仪测定其有机碳含量,每个样品测量 2 次,以平均值作为最后的测定结果。利用 Excel 2007 和 Origin 9.0 软件对数据进行分析和作图。

3 结果与讨论

3.1 仪器的精密度和准确度

选用乙酰苯胺和蔗糖标准样品对元素分析仪的精密度和准确度进行分析,结果见表 2。其中乙酰苯胺标准样品的 N、C 和 H 含量分别为 10.36%、71.09% 和 6.71%,蔗糖标准样品的 C 和 H 含量分别是(42.10 ± 0.19%)和(6.48 ± 0.13%)。测试结果表明,元素分析仪测定乙酰苯胺标准样品 C 含量的相对标准偏差为 0.11%,相对误差为 0.04% ~ 0.23%。蔗糖标准样品 C 含量的相对标准偏差为 0.08%,相对误差为 0.02% ~ 0.36%(表 2)。由此可见,元素分析仪的精密度和准确度高,重现性好。

3.2 土壤标准样品测试结果

本次实验所选用的土壤标准物质 GBW07424 和 B2186 的总有机碳含量分别是 2.67% 和 1.35%, IVA99994、IVA99995、IVA99996 和 IVA99997 土壤标准物质的总碳含量分别是 3.43%、0.73%、4.40% 和 2.47%。采用 3 种不同方法处理后的土壤标准样品总有机碳含量测试结果见图 1a。3 种方法处理的 GBW07424 和 B2186 两个土壤标准样品总有机碳含量测试结果的相对标准偏差分别为 0.08% 和 0.09%, 0.18% 和 0.08 以及 0.13% 和 0.02%,表明上述 3 种方法处理土壤标准样品时重现性差异不明显。另外,3 种方

法分别处理的两个土壤标准样品测试结果与标准值之间的相对偏差分别是 8.61% 和 6.67%,3.75% 和 1.48%,3.37% 和 0.74%,相对偏差均小于 9%,这表明 3 种前处理方法均可用于土壤有机碳的测定。其中,离心法和过滤法的相对标准偏差明显低于银杯法,过滤法的相对标准偏差最小。研究结果表明采用离心法和过滤法处理的土壤样品总有机碳测定值更接近土壤样品总有机碳的真实值,离心法和过滤法的准确度明显高于银杯法,且过滤法的准确度最高。

表 2　仪器精密度和准确度测定结果

Table 2　The results of precision and accuracy measurements

标准样品编号		GBW06201				A2021			
		N/%	C/%	H/%	C 含量相对误差	N/%	C/%	H/%	C 含量相对误差
标准值		10.36	71.09	6.71	/	0.00	42.10	6.48	/
测定结果	1	10.34	70.94	6.61	0.21	0.00	41.96	6.72	0.33
	2	10.33	71.19	6.65	0.14	0.00	42.22	6.80	0.29
	3	10.35	71.06	6.39	0.04	0.02	42.20	6.50	0.24
	4	10.36	71.16	6.44	0.10	0.02	42.16	6.48	0.14
	5	10.35	70.98	6.55	0.15	0.02	42.11	6.46	0.02
	6	10.39	71.21	6.57	0.17	0.01	42.22	6.51	0.29
	7	11.37	70.95	6.33	0.20	0.01	42.21	6.52	0.26
	8	10.20	70.93	7.08	0.23	0.01	42.22	6.50	0.29
	9	10.23	71.03	7.05	0.08	0.02	42.17	6.48	0.17
	10	10.33	71.19	6.65	0.14	0.01	42.25	6.50	0.36
相对标准偏差		0.32	0.11	0.24	/	0.01	0.08	0.11	/

此外,银杯法、离心法和过滤法处理的 IVA99994、IVA99995、IVA99996 和 IVA99997 等 4 个土壤标准样品有机碳测定结果的相对标准偏差分别是 0.12%、0.08%、0.09%,0.04%、0.02%、0.01%,0.25%、0.23%、0.12%,以及 0.03%、0.02% 和 0.01%。通过上述数据可以看出,离心法和过滤法的重现性优于离心法。由于 IVA99994、IVA99995、IVA99996 和 IVA99997 等 4 个土壤标准物质证书只有总碳含量,没有总有机碳含量,故不能计算有机碳的测定结果与真实值之间的相对偏差。但是,从测试结果可以发现,3 种方法的测试结果均较为接近,除 IVA99996 样品外,离心法和过滤法处理的土壤标准样品有机碳的测试结果明显高于银杯法的测试结果,表明采用离心法和过滤法进行前处理的土壤样品有机碳测试结果可能更接近其真实值。

3.3　加标回收率实验结果

采用 3 种不同前处理方法测定文中 2.3 所述加标回收率实验测试结果见图 1b。根据测定值和理论值可以计算出 3 种前处理方法的加标回收率大小。比如,银杯法、离心法和过滤法的加标回收率分别为 43.14% ~ 69.10%,79.94% ~ 102.09% 和 79.56% ~ 101.42%,说明离心法和过滤法的加标回收率明显高于银杯法,离心法和过滤法的加标回收率没有明显区别。银杯法、离心法和过滤法对应 4 个加标梯度的土壤加标试样的相对标准偏差分别为 0.09%、0.42%、0.50%、0.71%,0.18%、0.21%、0.43%、0.38%,0.13%、0.16%、0.34%、0.30%。上述测定数据表明,离心法和过滤法的重现性明显高于银杯法,且过滤法的重现性最好。

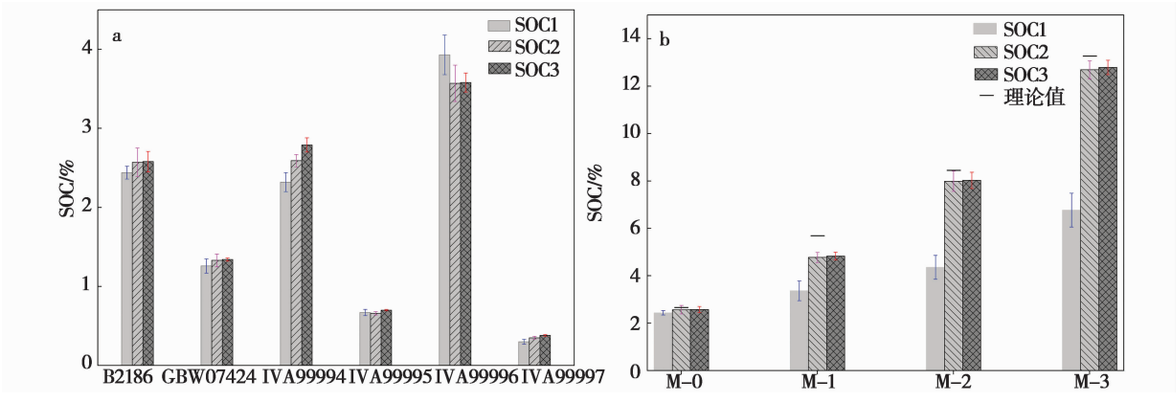

图 1 3 种方法处理土壤标准样品及其加标回收率有机碳的测定结果示意图

Fig. 1 The results of organic carbon from soil standard samples and its adding standard recovery treated by three different methods

3.4 土壤样品测定结果

采用 3 种不同前处理方法测定的 20 个表层土壤样品有机碳含量以及计算其相对标准偏差(图 2)。从测定结果可以看出,利用离心法和过滤方法去除无机碳后土壤有机碳测定结果较为相近,基于银杯法的测定结果却相差较大。3 种前处理方法的相对标准偏差分别为 0.00% ~0.67、0.01% ~1.34% 和 0.00% ~0.25%,这表明玻璃纤维滤纸过滤法的测试结果标准偏差最小,重现性最好。另外,通过对 3 种前处理方法测定土壤总有机碳含量的线性拟合结果表明,离心法和玻璃纤维滤纸过滤法的测试结果之间具有良好的线性相关性(R^2 = 0.9833),与银杯法的有机碳测定结果线性相关性不显著。

从测试结果可以看出,银杯法可能存在较大误差,该误差可能来源于实验处理过程中取样量太少,代表性差,且不能确保可溶性无机碳的完全去除。玻璃纤维滤纸过滤法的测定结果略高于离心法,相对标准偏差小于离心法。可能的原因是,离心法在清洗过程中可能存在较轻有机质被倾倒,从而致使土壤有机碳含量测试值低于真实值。然而,采用玻璃纤维过滤的方式冲洗,避免了有机质丢失,能更好地将土壤中的有机质全部保留下来,使得有机碳的测试结果更接近真实值。

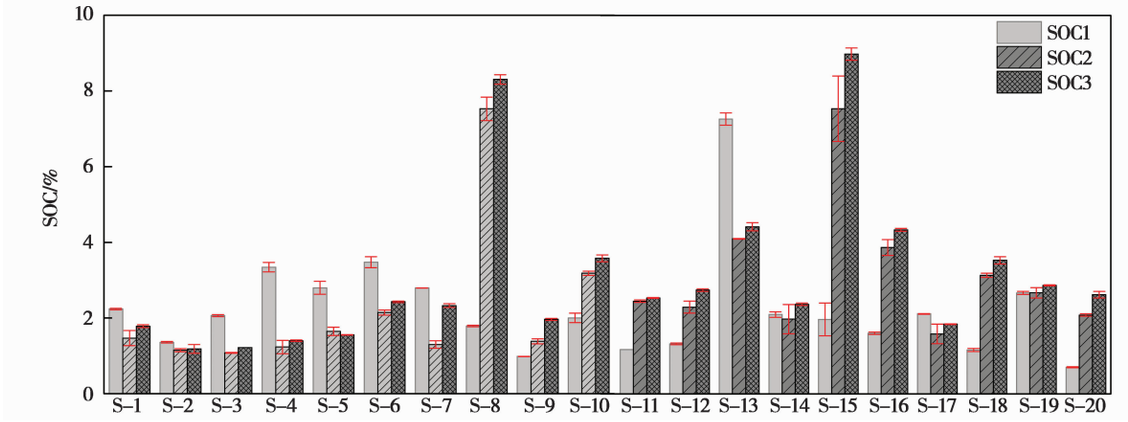

图 2 3 种不同前处理方法测定的土壤有机碳含量示意图

Fig. 2 The contents of soil organic carbon determined by three different pretreatment methods

4　结　论

1)目前元素分析仪在实验室内被广泛应用于测定样品的总碳含量,较少应用于总有机碳含量的测定。本文选用 3 种前处理方法去除无机碳,运用元素分析仪测定土壤有机碳含量。研究结果表明,元素分析仪可准确分析土壤有机碳含量。与传统的重铬酸钾氧化法相比,该方法具有操作简单、污染小和测试快速等优点,是一种土壤有机碳测试准确且便捷的方法。

2)3 种前处理方法测试结果表明,银杯法的测试结果存有较大误差,且未洗净的酸对元素分析仪具有较大影响。而离心法和玻璃纤维滤纸过滤法对元素分析仪不存在污染,且测定结果更为接近真实性。其中,玻璃纤维滤纸过滤法的测定结果重现性和准确性略高于离心法。

参考文献:

[1] 钱宝,刘凌,肖潇. 土壤有机质测定方法对比分析[J]. 河海大学学报(自然科学版),2011,39(1):34 - 38.

[2] 刘肖. 初探土壤有机质测定方法的改进[J]. 中国农学通报,2014,30(12):147 - 150.

[3] Avramidis P, Nikolaou K, Bekiari V. Total organic carbon and total nitrogen in sediments and soils: A comparison of the Wet Oxidation - titration method with the combustion-infrared method [J]. Agriculture & Agricultural Science Procedia, 2015,4(1):425 - 430.

[4] Yeomans J C, Bremner J M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil [J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1988,19(13):1467 - 1476.

[5] 李小涵,王朝辉. 两种测定土壤有机碳方法的比较[J]. 分析仪器,2009,(5):78 - 80.

[6] 庞奖励,张健,黄春长. High TOC Ⅱ 分析仪快速测定土壤和黄土样品中的有机碳[J]. 分析仪器,2003,(1):34 - 37.

[7] 李志鹏,潘根兴,李恋卿,等. 水稻土和湿地土壤有机碳测定的 CNS 元素分析仪法与湿消化容量法之比较[J]. 土壤,2008,40(4):580 - 585.

[8] Bisutti I, Hilke I, Raessler M. Determination of total organic carbon-an overview of current methods [J]. Trac-Trends in Analytical Chemistry, 2004,23(10 - 11):716 - 726.

[9] 吴才武,夏建新,段峥嵘. 土壤有机质测定方法述评与展望[J]. 土壤,2015,47(3):453 - 460.

[10] 李婧. 土壤有机质测定方法综述[J]. 分析试验室,2008,27(S1):154 - 156.

[11] Apesteguia, M, Plante A F, Virto I. Methods assessment for organic and inorganic carbon quantification in calcareous soils of the Mediterranean region [J]. Geoderma Regional, 2018,12: 39 - 48.

[12] Vitti C, Stellacci A M, Leogrande R, *et al*. Assessment of organic carbon in soils: a comparison between the Springer-Klee wet digestion and the dry combustion methods in Mediterranean soils(Southern Italy) [J]. Catena, 2016,137:113 - 119.

[13] 梁重山,党志,刘丛强. 土壤沉积物样品中有机碳含量的快速测定[J]. 土壤学报,2002,39(1):135 - 139.

[14] 王雪征,茜晓哲,庞建周,等. 比色法测定土壤有机碳含量的可行性研究[J]. 河北农业科学,2014,18(5):100 - 104.

[15] 王巧环,任玉芬,孟龄,等. 元素分析仪同时测定土壤中全氮和有机碳[J]. 分析试验室,2013,32(10):41 - 45.

[16] 张威,刘宁,吕慧捷,等. TruSpec CN 元素分析仪测定土壤中碳氮方法研究[J]. 分析仪器,2009,(3):46 - 49.

The Comparative Study on Different Pretreatment Methods of Soil Organic Carbon Determined by Elemental Analyzer

MIN Xiu-yun[1,2], WU Jun[1,2,3], GAO Chun-liang[1,2], XU Li-ming[1], LI Lei-ming[1,2,3], WANG Feng[2]

(1. *Key Laboratory of Comprehensive and Highly Efficient Utilization of Salt Lake Resources, Qinghai Institute of Salt Lakes, Chinese Academy of Sciences, Xining*, 810008, *China*;
2. *Qinghai Provincial Key Laboratory of Geology and Environment of Salt Lakes, Xining*, 810008, *China*;
3. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing*, 100049, *China*)

Abstract: This study compared the effects of three pretreatment approaches including silver cup method, centrifugation method, and filtration method on contents of organic carbon in standard soil samples determined by elemental analyzer. Recovery experiments were performed by adding N-Methylphthalimide to the soil samples with three addition levels. The results showed that all the *RSD* (relative standard deviation) values of organic carbon contents in soil standard substance determined by elemental analyzer with three pretreatment methods were lesser than 9%, indicating that these pretreatment methods could be suitable for determining the contents of soil organic carbon. The *RSD* values of soil organic carbon contents determined by elemental analyzer with centrifugation and filtration pretreatment methods were lesser than 4%. Compared with silver cup method, contents of soil organic carbon determined by elemental analyzer with centrifugation and filtration pretreatments were closer to the real contents. These results suggested that centrifugation and filtration pretreatment methods were better than silver cup method in accuracy and reproducibility. Recoveries of centrifuge method, filtration method, and silver cup method were in the ranges of 79.97% – 102.09%, 79.56% – 101.42% and 43.14% – 69.10%, respectively. Filtration method is the most accurate and reliable pretreatment for determining organic carbon contents in soil by elemental analyzer.

Key words: Elemental analyzer; Soil organic carbon; Silver cup method; Centrifugation method; Filtration method