

# “吸光量”的原理、技术和应用

李酉开 易小琳

(北京农业大学, 100094)

## 摘 要

本文概述了吸光量的概念、原理、测试技术和一些应用实例。

**关键词** 吸光度, 吸光量, 紫外光谱法, 土壤有效氮

紫外“吸光量”(Absorbability,  $Q$ )一词是我们<sup>[1,2]</sup>在研究紫外分光光度法测定土壤硝态氮的基础上,首次从“吸光度”(Absorbance,  $A$ )衍生发展,用以表征硝态氮和可溶性有机态氮在土壤样品中含量的新名词<sup>[4,7]</sup>。吸光度在一定范围内可表达溶液中某吸光物质的浓度,但不能表达样品(例如土壤)中该物质的浓度(含量)。吸光量则可用作表征该物质在样品中含量的指数。本文叙述了吸光量的依据原理,测定方法和已被引用的几个实例。

## 一、紫外光谱法测定硝态氮的原理和干扰问题

紫外光谱法测定硝态氮的原理是  $\text{NO}_3^-$  在紫外区(例如波长 210nm 处)有强吸收,溶液的吸光度与  $\text{NO}_3^-$  的浓度呈高度正相关,可由测得的紫外吸光度求算微量  $\text{NO}_3^-$ -N 或  $\text{NO}_3^-$ -N 的浓度<sup>[2,6]</sup>。此法用于土壤水浸出液或一些稀盐浸出液(例如电超滤浸出液, 0.01 mol/L  $\text{CaCl}_2$  或 0.05 mol/L  $\text{NaHCO}_3$  等浸出液)中微量  $\text{NO}_3^-$ -N 的测定时,主要干扰物质是土壤可溶性有机质,因为这些有机质在紫外区也有强吸收。其他可能存在的离子如  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{BO}_3^{3-}$ 、 $\text{OAc}^-$  等离子都无干扰;  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{Mo}^{6+}$ 、 $\text{OH}^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{NO}_2^-$  等离子虽有干扰,但  $\text{OH}^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$  可以酸化溶液至 pH 1.8 左右将其除尽,其他离子在非污染土壤的水或稀盐浸出液中存在的浓度极小,干扰影响很小,可以忽略不计(必要时也可设法消除)。

## 二、吸光量的概念、原理和测试技术

有机物质干扰紫外分光光度测定硝态氮是一个不利因素,但若运用得当,却可以转化为一个很有用的因素。

研究证明<sup>[4,7]</sup>,不同肥力水平的土壤水浸出液中可溶性有机质的紫外波谱都很相似,并无吸收性特征的变异;在波长 210nm 处的吸光度,在一定范围内与溶液中有机质的浓

度也有高度正相关。因此,酸化后的土壤浸出液在波长 210nm 处的紫外吸光度是硝酸根离子和有机质的总吸光度 ( $A_T$ ); 用适当的还原剂(例如镀铜锌粒、或镍铝合金粉)将其中的  $\text{NO}_3^-$  还原为  $\text{NH}_4^+$  后,再次测读得的吸光度是可溶性有机质的吸光度 ( $A_{\text{OM}}$ ); 还原前后两个吸光度值之差,即为  $\text{NO}_3^-$  的吸光度 ( $A_{\text{NO}_3^-}$ )。这三种紫外吸光度值分别与浸出液中的全氮 ( $N_T$ )、有机质 (OM) 和硝态氮 ( $N_{\text{NO}_3}$ ) 的浓度有密切的线性正相关。

研究还得知,不同肥力土壤水浸出液中的可溶性有机质的有机 C/N 比率近于一定值,例如北京不同地区土壤水溶性有机 C/N 比为 10.2 左右。因此,有机质的吸光度 ( $A_{\text{OM}}$ ) 就与有机氮 ( $N_{\text{org}}$ ) 的浓度也呈密切的正相关了。

$A_T$ 、 $A_{\text{NO}_3^-}$  和  $A_{\text{OM}}$  三种吸光度虽可分别表达土壤浸出液中  $N_T$ 、 $N_{\text{NO}_3}$  和  $N_{\text{org}}$  的浓度,但不能直接表达这三种氮在土壤样品中的浓度,因为浸出液的吸光度值不仅与溶液中吸光物质的吸光能力有关,同时还与浸提时所取称样量,浸提后浸出液的总体积,以及比色时的光径长度有函数关系。在一定范围内,吸光度具有加和性。

根据上述原理,我们创用了土壤紫外“吸光量”( $Q$ )这一新概念:土壤样品用某浸提剂浸提时,土壤所具在一定波长处的吸光量 ( $Q$ ),与浸出液的吸光度 ( $A$ ) 和浸出液的总体积 ( $V$ ) 成正比,与土样称取质量 ( $m$ ) 和比色光径长度 ( $b$ ) 成反比,

$$\text{土壤-}Q = AV/bm$$

当  $V$  以 L 为单位,  $b$  以 cm 为单位,  $m$  以 g 为单位时,  $Q$  的单位称为“吸光量单位”,  $q$ ; 若  $V$  以 ml 为单位时,  $Q$  的单位称为“毫吸光量单位”,  $mq$ ; 若  $m$  以 kg 为单位时,则上式的分子应乘 1000。

在一定范围内,土壤吸光量值与吸光度一样,也具有加和性。

土壤吸光量值的测试技术很简单,举例如下: 10g ( $m$ ) 风干土样与 100ml ( $V$ ) 0.05 mol/L  $\text{NaHCO}_3$  在室温下振荡 30 min, 加 0.3 g 固体  $\text{CaCl}_2$ , 剧烈摇振后即过滤。分取两份浸出液,各 25ml, 各加入 1ml 1:10  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 。在一份中加还原剂镀铜锌粒或镍铝合金粉,另一份则不加。放置过夜后在 210nm 处用 1cm ( $b$ ) 光径的石英比色槽分别测读  $A_T$  (未还原者) 和  $A_{\text{OM}}$  (还原后者) 值,二者之差为  $A_{\text{NO}_3^-}$ 。假设  $A_T$  为 0.127,  $A_{\text{OM}}$  为 0.080, 则

$$\text{土壤 NaHCO}_3\text{-}Q_T = 0.127 \times 0.100 \times 1000/10 = 1.27q/kg$$

$$\text{土壤 NaHCO}_3\text{-}Q_{\text{OM}} = 0.080 \times 0.100 \times 1000/10 = 0.80q/kg$$

$$\text{土壤 NaHCO}_3\text{-}Q_{\text{NO}_3^-} = 1.27 - 0.80 = 0.47q/kg$$

### 三、吸光量技术的优点和可靠性

土壤有效氮的含量一般较低,常以 mg/kg 计,土壤浸出液中各态氮的浓度更低。若用通常的开氏法和各种比色法分别测定溶液中的全氮、硝态氮和有机态氮,手续很复杂冗长,耗费试剂和工作时间很多,精密度也较差。上述的紫外吸光量技术则非常简易、快速、经济,方法的灵敏度和精密度较高,结果也很可靠。但是测得的各吸光量值只是表征各态氮含量的一种指数,具有相对比较的意义,而不是各态氮的绝对含量。然而,由于各吸光

量值与相应各态氮值之间均有很高的线性相关,所以彼此可以通过回归方程相互换算。紫外光谱法测定硝态氮本来就是根据  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度与  $A_{210}$  值的工作曲线或回归方程计算的。实验也表明用紫外法测得的土壤- $\text{N}_{\text{NO}_3^-}$  值的确与用酚二磺酸比色法的结果十分符合<sup>[4]</sup>。土壤可溶性有机氮则无法配制适用于各种土壤的标准溶液,但上述实验中用吸光量法测定土壤电超滤-全氮的吸光量 (EUF- $Q_T$ ) 值,与用开氏法测定的电超滤-全氮 (EUF- $N_T$ ) 值之间的相关性极高,  $r = 0.990$ ,可见土壤- $Q_T$  能准确表征土壤- $N_T$  的含量;从而也表明  $Q_{\text{OM}}$  可准确表征  $N_{\text{org}}$  的含量。后来的研究<sup>[3],1)</sup>进一步证明土壤的  $Q_{\text{OM}}$  值与用 Technicon 自动分析仪直接测定的  $N_{\text{org}}$  有很高的线性相关。

总之,几度研究证明,土壤- $Q_T$ 、 $-Q_{\text{NO}_3^-}$ 、 $-Q_{\text{OM}}$  值确实分别与土壤可浸出的  $N_T$ 、 $N_{\text{NO}_3^-}$ 、 $N_{\text{org}}$  均有高度线性相关,并可通过各自的回归方程互相换算。

#### 四、吸光量技术的应用实例

吸光量技术已在土壤测试有效氮的研究中被多方面应用,都获得了满意的效果。在电超滤浸提土壤有效氮的三项研究中,易小琳等<sup>[4]</sup>的结果表明华北 62 个旱地土壤的 EUF- $Q_T$  值中,  $Q_{\text{NO}_3^-}$  和  $Q_{\text{OM}}$  值平均分别占 55.6% 和 44.4%,可见,土壤有效氮中的有机态氮是不可忽视的部分;土壤 EUF- $Q_T$  值与盆栽冬小麦成熟期相对吸氮量或相对籽粒产量的对数回归相关系数  $r$  分别高达 0.903 或 0.847,远比土壤全氮和碱解氮值等的相关性高得多。任建茹等<sup>[4]</sup>认为我国各地不同土类的 88 个土壤(包括酸性、碱性、石灰性、或旱地和水田土壤)的 EUF- $Q_T$ 、 $-Q_{\text{NO}_3^-}$  和  $-Q_{\text{OM}}$  都能对应地表征土壤 EUF- $N_T$ 、 $-N_{\text{NO}_3^-}$  和  $-N_{\text{org}}$ ;通过冬小麦盆栽试验和好气、厌气培养矿化氮的相关研究,证实 EUF- $Q$  法是测试各类旱地土壤有效氮状况的良好方法,但对各类水田土壤则不适用。这可能是由于水田土壤中较多的  $\text{NH}_4^+$  不能被吸光量法测得的缘故。作者等<sup>[3]</sup>进一步确定旱地土壤 EUF- $Q_T$  值与 EUF- $N_T$  值之间有很高的线性相关,  $r = 0.994$ ,  $n = 50$ ,二者可以按下式相互交换:

$$1.00\text{q/kg 土壤 EUF-}Q_T = 1.61\text{mg/kg 土壤 EUF-}N_T$$

$$1.00\text{mg/kg 土壤 EUF-}N_T = 0.62\text{q/kg 土壤 EUF-}Q_T$$

沙丽清<sup>2)</sup>曾将紫外吸光量法用于土壤 0.01mol/L  $\text{NaHCO}_3$  和 0.01mol/L  $\text{CaCl}_2$ (25℃) 浸提有效氮的测试。他发现土壤  $\text{NaHCO}_3$  浸出液的  $A_{210}$  值稍高于相同土液比的  $\text{CaCl}_2$  浸出液的  $A_{210}$  值。这显然是微碱性的  $\text{NaHCO}_3$  溶液能溶解较多土壤低分子有机质的原因。土壤  $\text{NaHCO}_3$ -总吸光量 ( $\text{NaHCO}_3$ - $Q_T$ ) 与自动分析仪测定的土壤  $\text{NaHCO}_3$ -全氮 ( $\text{NaHCO}_3$ - $N_T$ ) 之间有很好的线性相关,  $r = 0.972$ ,  $n = 32$ ,  $Q_{\text{NO}_3^-}$  与紫外光谱法测定的  $N_{\text{NO}_3^-}$  的相关性更高,  $r$  几近于 1; 土壤  $\text{NaHCO}_3$ - $Q_{\text{OM}}$  与自动分析仪直接测定的土壤

1) 易小琳, 1992: 土壤有效氮测试方法和根际土壤氮动态的研究。博士学位论文,北京农业大学。

2) 沙丽清, 1991: 稀盐溶性氮、磷表征石灰性土壤供应氮、磷能力及微量磷分析方法的研究。硕士学位论文,北京农业大学。

$\text{NaHCO}_3\text{-Norg}$  的相关系数稍低, 为 0.766。这三种土壤  $\text{NaHCO}_3\text{-}Q$  值与盆栽冬小麦成熟期相对吸氮量的线性相关系数依次为 0.803, 0.829 和 0.160,  $n = 33$ 。在同一试验中, 土壤  $\text{CaCl}_2\text{-}Q_{\text{T}}$ 、 $-Q_{\text{NO}_3^-}$  和  $-Q_{\text{OM}}$  值与小麦相对吸氮量的相关性也很高 ( $Q_{\text{OM}}$  值的除外),  $r$  分别为 0.833, 0.827 和 0.430。显然, 吸光量法在这两种浸提土壤有效氮的方法中都是适用的。

易小琳<sup>1)</sup>用 19 个采自京、冀、鲁、豫、苏、皖、陕、鄂、新 9 省市旱地耕层土壤为材料, 以连续矿化-栽培微钵试验的春小麦全株吸氮量为参比项, 对 10 种土壤有效氮测试方法进行相关研究。结果表明, 5 茬春小麦的全株总吸氮量 ( $y$ ) 与土壤 0.05 mol/L  $\text{NaHCO}_3$  浸提的紫外吸光量  $Q_{\text{NO}_3^-}$  和  $Q_{\text{OM}}$  的二元回归相关性高于其他各法。

$$y = 84.04 + 1.00Q_{\text{NO}_3^-} + 30.25Q_{\text{OM}} \quad (R = 0.811, n = 19)$$

作者认为, 土壤  $\text{NaHCO}_3\text{-}Q_{\text{NO}_3^-}$  和  $-Q_{\text{OM}}$  可分别表征土壤硝态氮和易矿化的缓效氮, 并建议以此法作为评价旱地土壤有效氮水平的常规方法。同时, 她用 Technicon 自动分析仪测定土壤  $\text{NaHCO}_3\text{-}N_{\text{NO}_3^-}$  和  $-N_{\text{org}}$  值, 计算得这两种氮值与相应的  $Q_{\text{NO}_3^-}$  和  $Q_{\text{OM}}$  值之间的线性相关系数高达 0.999 和 0.909, 故可根据下列各式分别进行换算:

$$1.00\text{q/kgNaHCO}_3\text{-}Q_{\text{NO}_3^-} = 19.3\text{mg/kgNaHCO}_3\text{-}N_{\text{NO}_3^-}$$

$$1.00\text{mg/kgNaHCO}_3\text{-}N_{\text{NO}_3^-} = 0.052\text{q/kgNaHCO}_3\text{-}Q_{\text{NO}_3^-}$$

$$1.00\text{mg/kgNaHCO}_3\text{-}Q_{\text{OM}} = 16.3\text{mg/kgNaHCO}_3\text{-}N_{\text{org}}$$

$$1.00\text{mg/kgNaHCO}_3\text{-}N_{\text{org}} = 0.061\text{q/kgNaHCO}_3\text{-}Q_{\text{OM}}$$

看来, 紫外吸光量技术的应用前途很广, 凡是不含有紫外吸收干扰的重金属等的类似样品, 可能都可以运用相应的吸光量值作为评价样品中硝酸态氮和有机态氮含量的指数。

### 参 考 文 献

1. 任建茹, 李西开, 1991: 电超滤浸提土壤养分的研究, III. 电超滤—吸光量与培养矿化氮的相关性。北京农业大学学报, 17(1): 35—44 页。
2. 李西开, 1983: 紫外分光光度法测定硝酸盐。土壤学进展, (6): 44—56 页。
3. 李西开, 任 桦, 易小琳, 1993: 土壤电超滤氮、磷、钾中无机和有机组分的分配及相关研究。中国农业科学, 26(6): 59—67 页。
4. 易小琳, 李西开, 1990: 电超滤浸提土壤养分的研究, II. 表征旱地土壤有效氮的电超滤—吸光量。北京农业大学学报, 16(3): 285—292。
5. 易小琳, 李西开, 韩琅丰, 1983: 紫外分光光度法测定土壤硝态氮。土壤通报, (6): 35—40 页。
6. Norman, R.J. and Stucki, J.W., 1981: The determination of nitrate and nitrite in soil extracts by ultraviolet spectrophotometry. Soil Sci. Soc. Am. J., 45(2):347—353.
7. Yi Xiaolin and Li Youkai, 1986: Electro-ultrafiltration-absorbability (EUF-Q)—A new reliable index for characterizing the availability of soil nitrogen. In "Current Progress in Soil Research in People's Republic of China", 413—421, Jiangsu Sci. Tech. Pub. House.

1) 同前。

## PRINCIPLES AND PRACTICE OF “ABSORBABILITY”

Li Youkai and Yi Xiaolin

(Beijing Agricultural University, 100094)

### Summary

Absorbability ( $Q$ ) is a new concept which is derived from absorbance of determining nitrate nitrogen in soil by UV spectrophotometry for characterizing the contents of nitrate nitrogen and soluble organic nitrogen in soils. Absorbance indicates only the concentration of a light-absorbing component in solution rather than the content of this component in sample (e. g., soil sample). Absorbability may be used as an index of characterizing the content of a light-absorbing component in sample.

When a soil is extracted by an extractant, the absorbability ( $Q$ ) of the soil at a particular wave length is directly proportional to the absorbance ( $A$ ) and volume ( $V$ ) of soil extract but inversely proportional to the mass ( $m$ ) of soil sample and the optical path length ( $b$ ),

$$\text{Soil-}Q = AV/bm$$

within a certain range, the values of soil- $Q$  possess additive property.

The method of UV-absorbability is very simple, rapid, inexpensive, sensitive and precise, and the results obtained are reliable. The results of our experiments have shown that the soil absorbability values of total nitrogen, nitrate nitrogen, and soluble organic nitrogen (soil- $Q_T$ ,  $-Q_{NO_3}$ , and  $-Q_{OM}$ .) extracted by electro-ultrafiltration, 0.01mol/L  $CaCl_2$ , and 0.01 or 0.05mol/L  $NaHCO_3$  are closely correlated with the content of extractable total nitrogen, nitrate nitrogen, and organic nitrogen ( $N_T$ ,  $N_{NO_3}$ , and  $N_{org}$ ) determined by the Kjeldahl method or Technicon Autoanalyzer Technique, UV spectrophotometry or phenol disulphonic method, and Technicon Autoanalyzer techniques, respectively. Therefore, the soil- $Q$  values can really characterize the content of different fractions of available nitrogen in soil. Although soil- $Q$  values are provided with relative sense, the content of different forms of nitrogen in soil can be calculated by means of regression equation of these two variables. Some instances of application of absorbability were presented in this paper, and quite satisfactory results were obtained.

**Key words** Absorbance, Absorbability, UV spectrophotometry, Soil available nitrogen