

硝酸盐快速诊断技术在氮素营养诊断中的应用分析

王蕊 史自航 董冰 喻存媛 郁通 李天来*

(沈阳农业大学 园艺学院/设施园艺省部共建教育部重点实验室,沈阳 110866)

摘要 为了筛选出简便、实用的硝酸盐快速诊断技术,使实时监测植物氮素含量水平成为可能,对离子选择电极法与硝酸盐试纸法2种诊断技术进行综述,对比了其在工作原理、精度、存在问题和提高精度的途径等方面的研究现状。结果表明:2种方法都存在一定的干扰因素,并且尚无简便有效的消除方法;离子选择电极法受干扰因素影响更大,测量精度和测量稳定性低于硝酸盐试纸法;分析了硝酸盐快速诊断技术在植物氮素营养诊断领域的应用前景。为促进该技术的推广,在取样规范化、干扰因素分析研究、建立特定诊断体系以及降低诊断成本等方面提出了研究建议。

关键词 氮素;硝酸盐;快速诊断

中图分类号 S 158.3

文章编号 1007-4333(2013)03-0081-10

文献标志码 A

An review for nitrate quick test on nitrogen nutrition diagnosis

WANG Rui, SHI Zi-hang, DONG Bing, YU Tong, YU Cun-yuan, LI Tian-lai*

(College of Horticulture/Key Laboratory of Protected Horticulture of Ministry of Education,
Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract This paper is to review nitrate quick diagnosis methods. There are two nitrate quick diagnosis techniques of ion selective electrode and nitrite test paper. Both methods are different in their theory, accuracy, current problems, accuracy and interference factors. It is difficult for both to reduce the interference. In particular, the ion selective electrode is readily influenced compared with the nitrate test strips. The accuracy and stability of ion selective electrode are thus lower. It is analyzed for the potential of practical application of these methods. Some recommendations are given in future work such as sampling, interference reduction, specific diagnosis system and and cost reduction.

Key words N; nitrate; quick diagnosis

氮素是植物三大营养元素之一,参与植物的物质组成和生理代谢,对植物的营养生长与生殖生长有着重要的作用。氮素营养供应直接影响着光合作用和作物产量。在我国作物生产中,氮素利用率普遍较低^[1-2],多施、偏施氮肥现象比较常见^[3-5],有研究表明,我国土壤养分已经向过量累积发展^[5]。由此造成氮肥的浪费、土壤与地下水氮素污染^[6-7]、作物产品硝酸盐含量过高等不良后果。因此,发展氮素营养诊断技术,科学指导氮素施肥,对于提高农产

品产量与品质、防止土壤与地下水污染和农业的可持续发展都具有重要意义。

植物硝态氮在体内是一种半储备状态,当作物轻微缺氮时,硝态氮即会发生明显变化,而此时全氮含量没有明显变化^[8],有试验表明,植物叶柄内硝酸盐的含量与氮素供应呈良好的线性关系^[9-11]。因此,可以通过检测硝酸盐含量,诊断植物氮素营养水平^[12],为指导氮素科学施肥提供数据支持。传统的实验室硝酸盐诊断技术主要有光谱法、离子色谱法、

收稿日期:2012-09-20

基金项目:“现代农业产业技术体系专项资金资助”(Nycytx-35-gw23);国家“十二五”国家支撑项目(2011BAD12B03);辽宁省农业攻关项目(2011215003);国家自然科学基金项目(31000921)

第一作者:王蕊,讲师,博士,主要从事设施环境调控研究,E-mail:wang_rui80@yahoo.com.cn

通讯作者:李天来,教授,博士,主要从事蔬菜栽培与生理研究,E-mail:tianlaili@126.com

毛细管电泳法^[13]、气体扩散法^[14]和流动分析仪法等,大都需要借助复杂的仪器设备,取样测定工序繁琐,测定时间长。本研究所指硝酸盐快速诊断技术主要是指利用便携式硝酸盐分析仪器,可在田间对作物进行现场取样测定的硝酸盐诊断技术,属于化学诊断技术的一种。该技术特点是取样操作简单,测定迅速,可为农业生产者提供作物营养水平实时数据,实现作物硝酸盐水平实时监测,在指导作物施肥上有实际意义。目前硝酸盐快速诊断技术主要有离子选择电极法与硝酸盐试纸法。硝酸盐快速诊断技术的产生与发展,为氮素营养的化学诊断领域提供了新的思路。在国外,硝酸盐快速诊断技术已有应用研究报告,如用于番茄、小麦等作物氮素营养诊断^[9,12]。我国起步较晚,近年来在玉米^[15]、棉花^[16-17]以及大白菜^[10,18]、番茄^[19]、黄瓜、辣椒、韭菜^[20]等多种作物上有研究,也取得了一些研究成果,但这些成果还不系统、不全面,尤其对诊断方法的研究还不透彻^[21]。目前国内外已经出现的可在田间进行硝酸盐快速诊断的仪器,在测量精度、测量范围、可靠程度、样品处理方法以及成本等方面还有许多需要研究改进的问题。

本研究选取了2种比较典型,适合我国推广使用的硝酸盐快速诊断方法-离子选择电极法和硝酸盐试纸法进行综述,就2种方法的测量原理、测量精度、干扰因素及干扰因素的消除等方面进行比较,对2种方法操作难易、使用成本及适用领域等方面进行分析探讨。

通过梳理总结植物硝酸盐快速诊断技术发展现状,对比2种方法的不同特点和适用领域,分析2种诊断方法的主要干扰因素,以期找出2种诊断方法和现有检测仪器的主要不足,探讨硝酸盐快速诊断技术的今后研究趋势,旨在为该技术的应用推广研

究提供借鉴。

1 离子选择电极法

1.1 离子选择电极法工作原理及相应仪器

离子选择电极法,是利用2个电极与样品溶液组成原电池。2个电极中,一个为参比电极,电位相对稳定;另一个为硝酸根离子选择电极,当溶液的总离子强度为定值时,其电位与被测溶液中 NO_3^- 的活度满足能斯特(Nernst)方程(也称能斯特响应)

$$E = E_0 \pm \frac{2.303RT}{nF} \log a \quad (1)$$

式中: E 为电池电动势; E_0 为标准电极电位; R 为气体常数; T 为绝对温度; a 为待测离子活度; n 为电极反应中得失电子数; F 为法拉第常数。

而离子活度与离子浓度的函数关系为

$$a = fc \quad (2)$$

式中: c 为离子浓度; f 为活度系数。

原电池的电动势与待测离子的活度或浓度有一定的函数关系^[22],通过测量原电池的电动势即可得出待测离子的浓度。

目前有一些硝酸根浓度测量仪器是利用离子选择电极法原理制成的,并且具有体积小、易携带、样品液需量少、响应时间短等优点,适合田间硝酸盐的快速检测。比较典型的仪器如日本HORIBA公司生产的“Twin NO_3^- B-341”植物专用型简易离子计(简称“B-341”)。在蒸馏水洗净样品口后,滴入0.3~2.0 mL的样品液即可进行测量,待读数稳定后即可得出样品液 NO_3^- 浓度值。B-341的测量范围为100~9 900 mg/L(NO_3^-),即23~2 235 mg/L(NO_3^- -N),适合植物体内的 NO_3^- 浓度测量。样品液不需要稀释,操作流程简单,适宜没有操作经验的农业生产者使用。但是,这种“Twin NO_3^- B-341”植



图1 便携式硝酸盐离子计(左)及头部样品室(右)

Fig.1 Compact NO_3^- meter (the left picture) and its sample room on the head (The right picture)

物专用型简易离子计的设计精度在我国特定栽培方式下,能否满足作物施肥管理的要求,需进一步研究探讨。我国尚无简易离子计产品生产,普遍为台式离子计,不易携带,样品前处理相对复杂,而且样品液体积需要量大(需要浸没杆式电极头部),只适合实验室使用,无法满足田间现场快速检测要求。

1.2 离子选择电极法应用精度分析

1.2.1 离子选择电极法与实验室常规方法原理对比

实验室常规检测 NO_3^- 的方法有气体扩散法、流动注射分析法和光谱法等。气体扩散法的测量原理,是将样品与锌反应,释放 NH_3 ,继而测量 NH_3 含量,折算出 NO_3^- 含量。由于 NH_3 脱离样品液,测量时不受样品液内干扰物质影响^[14]。流动注射分析法原理是将 NO_3^- 还原为 NO_2^- ,利用偶氮原理使样品液显紫色,其颜色深度与 NO_2^- 含量成正比,通过检测吸光度来得出 NO_3^- 含量。光谱法大多是利用显色原理,将硝酸盐与酚类化合物硝化、水杨酸反硝化或还原剂还原等,生成有色物质,从而在分光光度计下测定吸光度,来反映 NO_3^- 浓度^[13]。以上方法共同特征是将 NO_3^- 转化为其他物质间接测量,检测环境被严格控制,大大减少了干扰物质的影响。

相比之下离子选择电极法是直接测量样品中的 NO_3^- 浓度,较易受样液中干扰物质的影响。离子选择电极对 NO_3^- 具有响应,也会对溶液中其他共存离子有响应,其测定的电动势实为被测 NO_3^- 与干扰离子的电动势之和^[22],所以容易产生测量误差。另外,由于高活动性的 H^+ 与 OH^- 会对电解位产生明显影响^[23],离子选择电极法对样品液 pH 也有一定要求。离子选择电极法 pH 适用范围在 3~9,并且适用范围随着 NO_3^- 浓度降低而变窄;在接近检测下限时,pH 在 2.8~4.2 之间最适^[24]。

1.2.2 离子选择电极法应用研究现状

一些研究人员的试验发现,使用离子选择电极法对植物样品进行硝酸盐检测,能取得与实验室常规方法较为一致的结果。Hartz 等^[25]使用离子选择电极法对青花菜、生菜、辣椒、番茄和西瓜等作物鲜叶柄汁液进行 NO_3^- 浓度检测,并使用实验室常规方法对相应作物的烘干叶柄组织进行 NO_3^- 浓度检测,2种方法的测量结果呈线性相关,相关系数 $r=0.77$ 到 $r=0.89$ 之间,认为此方法可以应用于以上作物的 NO_3^- 浓度检测。Westcott 等^[26]使用 Cardy

便携式硝酸盐离子计对大麦及燕麦汁液样品进行 NO_3^- 浓度检测,结果表明,Cardy 便携式硝酸盐离子计的测量结果与相应样品干物质 NO_3^- 浓度呈线性相关,相关系数分别为 $r=0.87$ 和 $r=0.89$,Cardy 便携式硝酸盐离子计的测量结果与 Accumet 台式离子选择电极测量结果线性相关系数为 $r=0.93$,Westcott 等认为可以使用便携式硝酸盐离子计对饲用作物进行 NO_3^- 浓度快速检测。刘宗林等^[27]在蔬菜样品 NO_3^- 浓度检测研究中,使用离子选择电极法与国家标准镉柱法分别检测蔬菜样品,两者检测结果相符,相对误差在 $\pm 6\%$ 以下,并且离子选择电极法检测回收率在 $92\% \sim 104\%$ 之间。汪建飞等^[20]将离子选择电极法与硝酸试粉法、酚二磺酸法进行测量对比,试验表明, NO_3^- 浓度在 $8 \times 10^{-5} \sim 8 \times 10^{-1} \text{ mol/L}$ 时,三者测量结果无明显差异,在适当掩蔽剂存在条件下,离子选择电极法可以直接用于蔬菜汁液样品测定。

一些研究人员的试验也发现,离子选择电极法测量结果与其他方法存在差异。Rosen 等^[28]使用硝酸盐离子选择电极与 Wescan 氮分析仪测量马铃薯叶柄汁液的 NO_3^- 含量,结果表明离子选择电极法的测量结果偏高。Westcott 等^[26]的试验结果中,Cardy 便携式硝酸盐离子计的测量结果普遍高于 Accumet 台式离子选择电极测量结果,线性方程斜率为 1.25。Ott-Borrelli 等^[29]使用 Cardy 小型硝酸盐离子计对叶菜的鲜叶样品进行测定,同时使用台式离子选择电极与流动注射分析仪对烘干样品进行检测,结果显示 Cardy 小型硝酸盐离子计试验结果与后 2 种方法结果差异较大(相关系数 r 分别为 0.25 与 0.21),当使用 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 溶液稀释后,结果仍不理想(相关系数 $r=0.41$)。台式离子选择电极与流动分析仪测量结果一致性很好(相关系数 $r=0.92$)。

从以上研究看,多数研究者的实验结果验证了便携式硝酸盐离子计快速检测 NO_3^- 与实验室常规方法有较好的相关性,一些试验结果虽然差异较大,但也有研究者得出同样测量原理的台式离子选择电极与实验室常规方法一致性很好的结果,有的使用掩蔽剂提高了测量精度,这说明离子选择电极法快速检测 NO_3^- 理论上可行,只是需要进一步研究分析实际应用中的各种干扰因素,提高其测量的精度和稳定性。

表1 离子选择电极法研究总结

Table 1 Summary of selective electrode method

| 研究者(年份) Researchers(years) | 测量仪器(方法) Instruments(methods) | 测量对象 Samples | 结果与结论 Results and conclusions |
|-------------------------------|----------------------------------|----------------------|--|
| Hartz等(1993) | 离子选择电极法;实验室常规方法 | 青花菜、生菜、辣椒、番茄和西瓜等 | 2种方法的测量结果呈线性相关,相关系数 $r=0.77\sim 0.89$ |
| Rosen等(1996) | 离子选择电极法;Wescan氮分析仪 | 马铃薯 | 离子选择电极法的测量结果偏高 |
| Westcott等(1998) | Cardy便携式硝酸盐离子计;Accumet台式离子选择电极 | 番茄、黄瓜、辣椒、青花菜、马铃薯和西瓜等 | Cardy离子计的测量结果与相应样品干物质 NO_3^- 浓度呈线性相关,与Accumet台式离子选择电极测量结果也呈线性相关,相关系数在0.87和0.93之间,但Cardy离子计的测量结果普遍偏高 |
| 刘宗林等(2001) | 离子选择电极法;国家标准镉柱法 | 多种蔬菜样品 | 两者检测结果相符,相对误差在 $\pm 6\%$ 以下,并且离子选择电极法检测回收率在92%~104%之间 |
| 汪建飞等(2004) | 离子选择电极法;硝酸试粉法、酚二磺酸法 | 多种蔬菜样品 | NO_3^- 浓度在 $8\times 10^{-5}\sim 8\times 10^{-1}$ mol/L时,三者测量结果无明显差异 |
| Ott-Borrelli等(2009) | Cardy小型硝酸盐离子计;台式离子选择电极、流动分析仪 | 叶菜样品 | Cardy小型硝酸盐离子计试验结果与后2种方法结果差异较大 |

1.3 离子选择电极法干扰因素分析和提高测量精 研究进展

1.3.1 干扰因素分析

对于植物叶柄汁液样品,存在的干扰物质主要有共存离子^[30]和有机成分^[31]。于立红^[32]通过计算得出, Cl^- 与 NO_2^- 对硝酸盐离子选择电极干扰较大。Okazaki等^[33]研究表明,菠菜在增加硝酸盐施入量后,其有机酸及氨基酸含量升高。因此,有机成分的干扰也不容忽视。另外,高浓度待测液也会影响离子选择电极的活性,造成测量偏差^[14]。目前针对不同作物、不同部位、不同生理期及不同生长环境的植物汁液样品主要干扰离子的研究较少。

1.3.2 干扰离子、有机物的消除

加入掩蔽剂可一定程度消除干扰离子及有机物的影响。EDTA可消除 Fe^{3+} 与有机物的干扰, Ag_2SO_4 可消除 Cl^- 、 CN^- 、 HCO_3^- 等离子干扰^[24,34],氨基磺酸可消除 NO_2^- 干扰, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 可消除有机酸的干扰^[35]。黄丽^[34]认为,通常每100 mL水样中加入0.5 g Ag_2SO_4 即可消除 Cl^- 干扰。

适度稀释样品液,可降低样品液中干扰成分的影响。HORIBA“Twin NO_3^- ”生产厂家提出,样品

液中 Cl^- 浓度小于40 mg/L时,可忽略其干扰,但是这一说法有待研究证实^[14]。有研究表明,当 Cl^- 施入量在0~450 kg/hm²时,青花菜木质部汁液的含量在80~400 mg/L之间线性变化^[36]。因此,按以上的研究数据,将样品液稀释10倍左右才能显著减少 Cl^- 的干扰。不同作物、不同位置、不同生理期以及不同生长环境的植物汁液样品内 NO_3^- 与主要干扰离子的浓度差异很大,Sophie等^[14]认为,这样的稀释在某些情况下会使样品液内的 NO_3^- 浓度低于HORIBA“Twin NO_3^- ”的校准范围,同样造成偏差。因此,对于离子选择电极法,稀释样品液并不是最佳的消除干扰因素的方法,只有当干扰离子的浓度与 NO_3^- 浓度相差较大时,才可采用。

使用总离子强度调节缓冲溶液(Total Ion Strength Adjustment Buffer,简称TISAB)。使用TISAB可以创造一个高而稳定的离子强度背景,有效降低干扰离子的影响,提高离子选择电极的测量稳定性^[14,22]。于立红^[32]在对蔬菜硝态氮速测方法的研究中,对5种TISAB进行选择,得出的最佳调节液为0.1 mol/L NaH_2PO_4 -0.05 mol/L CH_3COONa 。宋莲军等^[37]对蔬菜样品液硝酸盐测定试验中,筛选

出 $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 溶液加入 Ag_2SO_4 固体为最佳 TISAB。Rosen 等^[28]在对马铃薯叶柄 NO_3^- 浓度测量中发现,虽然离子电极法测量结果比试验中采用的另外 2 种方法偏高,但是当样品液加入 0.075 mol/L 的 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 溶液后,离子电极法测量结果与另外 2 种方法的差异减小。Ott-Borrelli 等^[29]的研究也有类似的结果,经 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 溶液 1:1 稀释后,Cardy 小型硝酸盐离子计对鲜样的测量结果与台式离子选择电极对干样测量结果的相关性提高了 16%,但是始终差异较大。以上研究结果显示,TISAB 可一定程度降低干扰因素的影响,但作用有限,并且各研究对最佳 TISAB 的选择也存在差异。此外,在田间硝酸盐快速检测应用中,TISAB 的应用安全性也要加以考虑。

2 硝酸盐试纸法

2.1 硝酸盐试纸法工作原理

1970 年,硝酸盐试纸由德国人 Kuhnert 发明并申请专利。试纸主要由硝酸盐反应试剂(显色剂、还原剂、有机酸)、助剂(抗氧化剂、热稳定剂、表面活性剂)和 PVC 塑料板组成。在酸性条件下,先利用还

原剂将 NO_3^- 还原为 NO_2^- ,再将 NO_2^- 与显色剂反应形成粉红色,其颜色深浅与 NO_2^- 浓度呈比例,测得出 NO_2^- 浓度,即可得出 NO_3^- 浓度^[38]。目前主要有比色卡目测和反射仪测定 2 种方法用于检测显色深浅。

比色卡是由梯度浓度对应的标准颜色构成的,类似于 pH 试纸比色卡。试纸浸没在样品液中 2 s 后取出,轻轻甩去多余液体,然后将试纸显色区与比色卡上标准颜色作对比,与之最接近的颜色所对应的浓度值,即为试纸测量值。比色卡测量值需要估读,只能用于半量化测量。

反射仪通过 LED 光源发射绿光,其绿色与试纸上显色形成的粉红色有良好的互补性。发射的绿光打在试纸显色区后,一部分被吸收,另一部分被反射到一个 cds 光电池。光电池置于一惠斯通电桥中,通过微安计来检测电流量,将电流量转化为浓度输出^[38]。比较典型的仪器如德国产的 Rqflex 便携式反射仪,具有体积小、重量轻和响应时间短等优点,可用于田间快速检测。反射仪的应用,大大提高了硝酸盐试纸法测量精度,使硝酸盐试纸法进入量化测量阶段。



图 2 硝酸盐试纸及反射仪

Fig. 2 Nitrate test strip and reflectometer

2.2 硝酸盐试纸法应用精度分析

2.2.1 硝酸盐试纸-比色卡法

由于测量结果是测量人员根据比色卡目测得出,人为因素对结果的影响是这个方法需要重点考虑的。Bischoff 等^[39]通过测量人员读取结果与高效液相色谱仪测试结果比较,发现两者有较好的一致性。Jain 等^[40]研究表明,19 家独立的商业实验室使用比色卡对同一饲用植物样品的 NO_3^- 浓度检测结果也保持了相当高的稳定性。而 Waters 等^[41]的研究表明,通过比色卡测定样品液 NO_3^- 浓度,其结果与离子色谱法测定结果比较,其结果普遍偏高,并且

相关性差(线性趋势线的斜率为 1.29,相关系数 $r = 0.85$)。由 Waters 等^[41]的试验可知,比色卡上只有 0、10、25、50、100、250 和 500 mg/L 对应的颜色,当试条颜色处于两相邻颜色之间时,测量值需要估读,无法提高测量精度。从试验情况看,同一样品不同重复之间读数差异较大,使用比色卡无法实现高精度测量,只能用于半量化测量。

2.2.2 硝酸盐试纸-反射仪法

利用反射仪测定试条颜色,可进行量化分析,并且可大大提高分析精度。Waters 等^[41]的研究表明,使用反射仪测定污水样品,其结果同离子色谱法

结果比较,两者有很好的一致性(趋势线斜率 0.98, 相关系数 $r=0.996$)。在以植物汁液样品为测量对象的试验中, Hochmuth^[42] 研究总结了番茄、黄瓜、辣椒、青花菜、马铃薯和西瓜等多种作物 10 年的叶柄汁液 NO_3^- 浓度数据, 结果表明, 使用硝酸盐试纸-反射仪法测量结果要略高于 HACH 自动比色仪测量结果, 但是误差在 50~100 mg/L 之间, 并认为在植物氮水平检测上不会对结果产生实质的影响。国内研究中, 李志宏等^[43] 使用硝酸盐试纸-反射仪法对玉米和油菜汁液样品进行 NO_3^- 浓度测定, 并与流动注射分析法和色谱法对比结果, 从试验结果看, 硝酸盐试纸-反射仪法与 2 种实验室常规方法表现了较好的一致性, 线性相关系数分别为 $r=0.93$ 和 $r=0.86$; 张树兰等^[44] 在冬小麦-夏玉米轮作氮营养诊断试验中, 比较了硝酸盐试纸-反射仪法与流动注

射分析法的 NO_3^- 浓度测定结果, 结果表明两者具有高度相关性, 相关系数为 0.94; 汤丽玲等^[38] 使用硝酸盐试纸-反射仪法对蔬菜组织液 NO_3^- 浓度进行测量, 并与连续流动分析法比较, 结果表明, 两者具有较好的一致性(线性相关系数达到 0.98 以上); 衡利沙等^[45] 使用自行研制的双波长反射仪进行 NO_3^- 速测研究, 结果表明: NO_3^- 浓度为 1.0~50.0 mg/L 时, 双波长反射仪法速测植株中硝酸盐, 回收率为 92.8%~107.9%, 测试的相对标准偏差为 2.4%~4.6%, 测值与标准值的绝对误差在 10% 以内, 并且其测量结果与硝酸盐试粉法结果呈极显著线性相关 ($r=0.999$)。以上试验结果表明, 对于植物汁液样品 NO_3^- 的检测, 硝酸盐试纸-反射仪法与一些其他方法的测量结果有较好的一致性, 这说明该法的测量精度与测量稳定性能够达到对植物汁液样品 NO_3^-

表 2 硝酸盐试纸-反射仪法研究总结

Table 2 Summary of nitrate test strip method

| 研究者(年份) Researchers (years) | 测量仪器(方法) Instruments (methods) | 测量对象 Samples | 结果与结论 Results and conclusions |
|--|--------------------------------------|----------------------|---|
| Waters 等(1995) | 硝酸盐试纸-反射仪; 色谱仪 | 污水样品 | 2 种仪器测量结果线性趋势线斜率为 0.98, 相关系数 0.996, 一致性较好 |
| Hochmuth(1994) | 硝酸盐试纸-反射仪; HACH 自动比色仪 | 番茄、黄瓜、辣椒、青花菜、马铃薯、西瓜等 | 硝酸盐试纸-反射仪法测量结果略高于 HACH 自动比色仪, 误差较小 |
| 李志宏等(1997); 张树兰等(2000); 汤丽玲等(2001) | 硝酸盐试纸-反射仪; 流动分析仪; 色谱仪 | 玉米、油菜、小麦 | 硝酸盐试纸-反射仪法与另两种实验室常规方法线性相关系数高, 一致性较好 |
| 衡利沙等(2012) | 硝酸盐试纸-双波长反射仪; 硝酸盐试粉法 | 长叶草、苋菜等植物样品 | 硝酸盐试纸-双波长反射仪测量较稳定, 与硝酸盐试粉法极显著相关 |

的检测要求。

2.3 硝酸盐试纸法干扰因素分析和提高测量精度研究进展

2.3.1 干扰因素

硝酸盐试纸法的反应原理与流动注射分析法等类似。其优点是将 NO_3^- 转化为其他物质进行测定, 干扰物质影响小。对于植物汁液样品而言, 存在的干扰物质主要有 Fe^{3+} 、 K^+ 和 Cl^- 等离子及一些有机色素, 它们会在一定程度上掩盖试条上的颜色^[14]。

2.3.2 稀释样品液

硝酸盐试纸法提供的量程较低, 在测定植物汁液样品时, 稀释样品液成为必要操作步骤, 同时, 有

研究表明, 在低浓度范围, 硝酸盐试纸法的测量精度较高。李花粉等^[46] 的试验结果显示, 在 0~50 mg/L 的低浓度范围内, 硝酸盐试纸-反射仪法对标准溶液的测定结果相对偏差小于 5%。李志宏等^[43] 认为在 150~400 mg/kg 的范围内, 硝酸盐试纸-反射仪法的测定结果能很好地符合真值。这可能是由于稀释减弱了一些干扰因素的影响, 有助于提高测量精度^[14]。在进行稀释操作前, 要根据不同情况选择合适的稀释倍数。陈锦玉等^[47] 在试验中, 以样品液内 NO_3^- 浓度的不同为依据, 将样品液在 20~100 倍范围内进行稀释; 危常州等^[16] 对棉花样品液稀释 50~100 倍。

2.3.3 对样品液本身颜色的处理

植物样品本身的颜色,会对硝酸盐试纸法的显色产生一定影响。李花粉等^[46]以菠菜(颜色较深)和花椰菜花球(颜色较浅)为试材,使用活性炭进行前处理,并使用硝酸盐试纸-反射仪法和国标法(GB/T 15401-94)对样品进行硝酸盐测定。结果显示,菠菜组加活性炭处理和不加活性炭处理的硝酸盐试纸-反射仪法测定结果相差较大(相对误差为65%);而花椰菜组的硝酸盐试纸-反射仪法测定结果相差较小(相对误差为13%)。由此李花粉等^[46]认为颜色对硝酸盐试纸法存在干扰,并可以通过活性炭减少干扰。在与国标法比较的试验中,菠菜打浆液加活性炭处理组的结果仍与国标法结果存在显著性差异。活性炭虽然可以消除叶绿素等一些色素的干扰,但是也会吸附部分 NO_3^- ,造成新的测量误差,因此在使用活性炭时,要考虑活性炭的用量及溶液的pH环境^[45,48]。

一些颜色较浅的植物样品颜色对其试验结果的干扰很小,可以忽略。李花粉等^[46]的试验中,未加活性炭处理的花椰菜花球样品的硝酸盐试纸-反射仪法测量结果与国标法测量结果相关性显著($r=0.91$);沙凌杰等^[49]对6个品种的白菜叶柄(样品液只进行了稀释处理,未加入活性炭等物质)进行硝酸盐试纸-反射仪法与国标法(GB/T 15401-94)的硝酸盐测量对比试验,结果表明,两者测量结果极显著相关($r=0.93$)。

2.3.4 选择合适的测量环境温度

有研究表明,温度对硝酸盐试纸法的测量结果有一定影响。Schmidhalter^[50]研究了不同温度(6~30℃)下,硝酸盐试纸法对 NO_3^- 浓度处于5~90 mg/kg范围的样品(样品浓度已知)的测量值,发现较低温度下测量值低于真实值,而较高温度下的测量值高于真实值。在20℃时测量值与真实值一致性很好,可作为最佳测量温度。这种对温度敏感的现象在测量较高浓度样品时表现得更加明显。为此,在测量时应尽量保持样品及环境温度处于20℃左右。由于田间测量环境温度不可能始终处于20℃,实际应用中应研究不同温度下的校正系数,供测试者修正不同温度下的测量数据。

3 离子选择电极法与硝酸盐试纸法对比

3.1 测量原理与测量精度对比

2种方法基于不同的测量原理。硝酸盐试纸法

是通过化学反应将 NO_3^- 转化为其他物质再进行显色反应,这种化学应对 NO_3^- 有较高的特异性识别,但颜色较深的植物汁液样品会一定程度影响显色的测定。离子选择电极法是利用选择电极对 NO_3^- 的特异性响应,但这种特异性响应会受到一些共存离子的干扰,这是离子选择电极法产生误差的主要原因。从测量原理看,硝酸盐试纸法的测量精度与稳定性要高于离子选择电极法。从现有的研究结果来看,硝酸盐试纸法的测量精度普遍能满足实验要求,与其他实验室常规检测方法有较好的一致性。离子选择电极法在一些情况下还达不到实验要求,尤其是小型便携式离子计,测量精度与测量稳定性还有待提高。

硝酸盐试纸法的干扰因素较少,样品液经适当稀释,可减弱干扰因素的影响,达到较高的测量精度,但对于颜色较深的植物汁液样品,尚无有效方法降低样品本身颜色的干扰;离子选择电极法可通过稀释样品液、添加掩蔽剂和TISAB提高测量的精度,但从现有研究成果看,3个方面的研究均未取得实质性突破,现有技术手段还不能满足不同植物汁液样品检测的复杂情况,提高测量精度的效果有限。

3.2 仪器可操作性及使用成本对比

在实际生产中,硝酸盐快速诊断技术可应用于作物氮素营养实时监测、农产品硝酸盐达标初检等方面,操作者多为农民或基层农业科技人员,仪器操作的难易和使用成本直接影响着这一技术的推广。硝酸盐试纸法需要先对植物汁液样品进行稀释,这一必要步骤可能会增加操作的失误率。离子选择电极法,尤其是便携式离子计,操作简便,植物汁液样品一般不需稀释可直接测量,仪器仅需操作前使用标准溶液进行校准。但目前该仪器的测量精度还不高,如要提高精度,则需要进行样品稀释或加入掩蔽剂与TISAB等,增加了田间操作的复杂性。

硝酸盐试纸法中,反射仪价格较高,作为消耗品的硝酸盐试纸目前没有实现国产化,测试费用也较高;若使用硝酸盐试纸-比色卡法,省去反射仪的费用,费用较低。离子选择电极法中,便携式离子计价格较低,无日常消耗品,但核心部件-离子选择电极有使用寿命,达到一定次数就需更换(在150~300次左右)。(这里讨论的使用费用高低,是就科研基地或大中型农业生产企业而言的,而对于我国广大农村现状,用于基层政府部门实施农业服

务,开展配方施肥尚可,如要在个体农业生产者间推广使用,以上任何一种硝酸盐快速检测方法都是一笔不小的开支。)

3.3 小结

离子选择电极法的优点是,操作简便、费用较低,易被农业生产者接受;缺点是测量精度与稳定性较差,测量数据可信度较低。硝酸盐试纸-反射仪法的优点是测量精度与稳定性好,数据可靠;缺点是需稀释样品液,操作稍显复杂,费用较高。硝酸盐试纸-比色卡法拥有与硝酸盐试纸-反射仪法同样的测

量稳定性,费用低;缺点是只能用于半量化测量。

根据不同的测量要求,以上硝酸盐快速诊断技术可应用于不同的农业生产领域。离子选择电极法适用于对精度要求不高的田间氮素营养诊断、氮素水平监测以及最佳追肥量判断等领域。硝酸盐试纸-反射仪法精度高,既适用于田间氮素营养诊断领域,更能运用于农产品硝酸盐达标检测等高精度要求的硝酸盐快速诊断领域。硝酸盐试纸-比色卡法可进行半量化分析,可用于田间氮素营养诊断及农产品的初检等方面(表3)。

表3 硝酸盐快速诊断方法对比

Table 3 comparison of several rapid nitrate test methods

| 方法 Method | 测量精度 Measurement accuracy | 使用成本 Cost | 可操作性 Manipulity | 适用领域 Suitable application field | 备注 Remarks |
|--------------|---------------------------------|--------------|--------------------|------------------------------------|----------------------|
| 离子选择电极法 | 低 | 低 | 较好 | 田间氮素营养诊断、氮素水平监测及追肥量判断等 | 可选加掩蔽剂、TISAB(如需提高精度) |
| 硝酸盐试纸-比色卡法 | 低 | 低 | 较差 | 田间氮素营养诊断、农产品的初步检测等 | 必须稀释样品 |
| 硝酸盐试纸-反射仪法 | 高 | 高 | 较差 | 农产品的硝酸盐达标检测 | 必须稀释样品 |

4 展望

研究提高硝酸盐快速诊断技术水平,用简便高效的检测手段,及时掌握作物氮素营养水平,实现氮素施肥精准化,是发展现代农业,尤其是设施农业、工厂化生产高品质农产品的必然要求。从本文综述情况看,实现硝酸盐快速诊断技术的推广应用,需从以下方面继续深入研究。

4.1 研究规范的植物样品取样过程和样品处理方式

由于硝态氮在植物体内是一种半储备状态,随时会发生明显变化,在进行田间快速检测时,取样的部位、时间、数量和样品的保存处理方式等因素都会对测量结果有较大影响。在本文中,前人的研究结果存在一定差异,可能与取样及样品处理方式不同有关。规范、统一的植物样品取样过程和样品处理方式是进行硝酸盐快速诊断技术研究的基础,简便实用的取样操作流程是其推广应用的前提。对某一作物,研究科学规范及简便实用的取样方式,具有重要的实践意义。

4.2 分析消除各种干扰因素

硝酸盐快速诊断技术是由对水样等无机样品的

测定发展而来,而待测植物汁液样品,其成分更加复杂,内含干扰因素众多。比如本文中分析的干扰离子和有机物质对于离子选择电极法的干扰,以及植物色素对硝酸盐试纸-反射仪法的干扰,都是不可忽视的。植物汁液样品干扰因素复杂性还表现在,不同作物,不同生长时期,干扰因素差异很大。目前缺乏广泛而有效的干扰消除方法,因此有必要在干扰消除上深入研究。只有对植物样品液中存在的各种干扰因素开展广泛而透彻的研究,才能找出消除干扰影响的有效方法,这是提高硝酸盐检测稳定性、准确性,使硝酸盐快速诊断技术取得突破、走向实用的关键。

4.3 开展有较强针对性的硝酸盐快速诊断体系应用研究

根据不同的诊断目的,硝酸盐快速诊断技术可应用于作物生产的不同生长阶段,如苗期、营养生长期、生殖生长期氮素营养水平监测,还可应用于采后检测,如叶菜类、果菜类农产品硝酸盐含量检测。不同诊断目的,不同诊断作物以及不同检测对象,诊断体系的建立会有差异。如果没有特定的诊断方案,或套用其他诊断方案,难以得出准确有效的诊断数

据。开展针对特定作物与特定诊断目的硝酸盐快速诊断数据应用研究,制定特定的诊断方案与标准,是该技术走向实用的必经之路。从硝酸盐快速诊断的最佳取样部位、取样时间研究,到诊断数据与植株氮素营养水平相关性研究,以及基于此相关性而得出的氮肥追肥量研究,建立起有较强针对性的硝酸盐快速诊断体系,推动硝酸盐快速诊断技术的应用推广。

4.4 降低仪器购置使用费用

可通过国家政策支持,产学研结合,开展科技攻关,突破检测仪器的核心技术,实现检测仪器国产化、检测技术实用化,降低检测仪器和相关产品的生产成本,不断扩大硝酸盐快速诊断技术的应用范围,最终实现硝酸盐快速诊断技术的广泛推广。

参 考 文 献

- [1] 张福锁,王激清,张卫峰,等.中国主要粮食作物肥料利用率现状与提高途径[J].土壤学,2008,45(9):915-924
- [2] 串丽敏,赵同科,安志装,等.土壤硝态氮淋溶及氮素利用研究进展[J].中国农学通报,2010,6(11):200-205
- [3] 陈署晃,张炎,刘俊,等.新疆棉花施肥现状、问题与对策[J].新疆农业科学,2008,45(1):147-150
- [4] 王平,陈新平,田长彦,等.新疆南部地区棉花施肥现状及评价[J].干旱区研究,2005,22(2):264-269
- [5] 张福锁,崔振岭,王激清,等.中国土壤和植物养分管理现状与改进策略[J].植物学通报,2007,24(6):687-694
- [6] 王平,陈新平,张福锁,等.不同水氮处理对菠菜硝酸盐累积和土体硝态氮淋洗的影响[J].农业环境保护,2001,20(5):326-328
- [7] 薛利红,罗卫红,曹卫星,等.作物水分和氮素光谱诊断研究进展[J].遥感学报,2003,7(1):73-79
- [8] 李俊华,董志新,朱继正.氮素营养诊断方法的应用现状及展望[J].石河子大学学报:自然科学版,2003,7(1):80-83
- [9] Prasad M, Spiers T M. A rapid nitrate sap test for outdoor tomatoes[J]. Sci Hortic-Amsterdam,1985,25:211-215
- [10] 朱丽丽.大白菜氮素营养诊断技术体系的研究[D].长春:吉林农业大学,2006
- [11] 罗琳,郑德明,王红叶,等.氮肥对杂交棉叶柄硝酸盐含量及其产量的影响[J].安徽农学通报,2009,15(11):111,240
- [12] Papastylianou I, Puckridge D W. Stem nitrate nitrogen and yield of wheat in a permanent rotation experiment[J]. Aust J Agr Resour Ec,1983,34:599-606
- [13] 薛利红,杨林章.蔬菜硝酸盐检测方法研究进展[J].江苏农业科学,2007,4:222-226
- [14] Sophie E Parks, Donald E Irving, Paul J Milham. A critical evaluation of on-farm rapid tests for measuring nitrate in leafy vegetablest[J]. Sci Hortic-Amsterdam,2012,134:1-6
- [15] 米艳华,李茂萱,潘艳华,等.玉米N素营养快速诊断精准施肥技术研究[J].西南农业学报,2008,21(2):402-407
- [16] 危常州,张福锁,朱和明,等.新疆棉花氮营养诊断及追肥推荐研究[J].中国农业科学,2002,35(12):1500-1505
- [17] 王红叶,姜益娟,罗琳,等.杂交棉氮素营养诊断指标的初步研究[J].中国棉花,2009,7:11-13
- [18] 高艳明,曹云娥,李建设,等.春大白菜田间氮素营养快速诊断及最佳用量研究[J].中国土壤与肥料,2007,6:61-63
- [19] 汤明尧.施氮对加工番茄养分吸收、分配及产量品质的影响[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2009
- [20] 汪建飞,陈世勇,邢素芝,等.电极法测定蔬菜中硝酸盐的方法研究[J].甘肃农业科技,2004,5:39-41
- [21] 万春雁,糜林,李金凤,等.氮素营养诊断技术在我国园艺作物上的应用现状[J].江苏农业科学,2011,39(6):322-324
- [22] 顾光煜.离子选择电极分析在生物医学检验中的应用[J].临床检验杂志 2002,20(特刊):29-32
- [23] 李素力.离子选择电极法测定乳制品中硝酸盐含量方法的研究[J].山西食品工业,2005(4):43-44
- [24] 王素芳,田文.离子选择电极法测定水和土壤中的硝酸盐氮[J].环境科学研究,1989,2(1):38-43
- [25] Hartz T K, Smith R F, Lestrangle M, et al. On-farm monitoring of soil and crop nitrogen status by nitrate-selective electrode [J]. Commun Soil Sci Plan,1993,24:2607-2615
- [26] Westcott M P, Cash S D, Jacobsen J S, et al. Sap analysis for diagnosis of nitrate accumulation in cereal forages[J]. Commun Soil Sci Plan,1998,29:1355-1363
- [27] 刘宗林,贾建会,樊利青.蔬菜中硝酸盐的危害及检测[J].食品科学,2001,22(7):65-67
- [28] Rosen C J, Errebhi M, Wang W S. Testing petiole sap for nitrate and potassium: A comparison of several analytical procedures[J]. Hortscience,1996,31:1173-1176
- [29] Ott-Borrelli K A, Koenig R T, Miles C A. A comparison of rapid potentiometric and colorimetric methods for measuring tissue nitrate concentrations in leafy green vegetables [J]. Horttechnology,2009,19:439-444
- [30] Milham P J, Awad A S, Paull R E, et al. Analysis of plants, soils and waters for nitrate by using an ion-selective electrode [J]. Analyst,1970,95:751-757
- [31] Jackson R K. Avoiding interferences and problems in the determination of nitrate-comparison of 2 methods-Orion specific ion electrode and the cadmium column[J]. Commun Soil Sci Plan,1980,11:127-134
- [32] 于立红.蔬菜中硝态氮速测方法及硝酸盐污染评价的研究[D].长春:吉林农业大学,2005
- [33] Okazaki K, Oka N, Shinano T, et al. Differences in the metabolite profiles of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaf in different concentrations of nitrate in the culture solution[J]. Plant Cell Physiol,2008,49:170-177
- [34] 黄丽.离子选择性电极法直接测定水质中硝酸盐氮[J].中国公共卫生,1999,15(3):220
- [35] 赵庆武,孙金.改良离子选择电极法测定水样中硝酸盐氮[J].

- 应用化工,2010,39(10):1597-1598
- [36] Liu L X, Shelp B J. Impact of chloride on nitrate absorption and accumulation by broccoli (*Brassica oleracea* var *italica*) [J]. *Plant Sci*, 1996, 76: 367-377
- [37] 宋莲军, 侯永新, 任洪涛, 等. 浓度直读法快速测定蔬菜中的硝酸盐和亚硝酸盐含量[J]. *中国卫生检验杂志*, 2005, 15(12): 1444-1446
- [38] 汤丽玲, 陈清, 张宏彦, 等. 采用试纸条-反射仪方法快速测定蔬菜硝酸盐含量[J]. *北方园艺*, 2001, 140: 9-10
- [39] Bischoff M, Hiar A M, Turco R F. Evaluation of nitrate analysis using test strips: Comparison with two analytical laboratory methods[J]. *Commun Soil Sci Plan*, 1996, 7: 2765-2774
- [40] Jain A V, Ross P F, Carlson M P. Screen nitrate in forages with a test strip: Collaborative study[J]. *J AOAC Int*, 1999, 82: 9-15
- [41] Waters L C, Counts R W, Palausky A, et al. Colorimetric strip tests—a comparison of visual and reflectometric measurements for quantitative applications[J]. *J Hazard Mater*, 1995, 43: 1-12
- [42] Hochmuth G J. Efficiency ranges for nitrate-nitrogen and potassium for vegetable petiole sap quick tests [J]. *Horttechnology*, 1994, 4(3): 218-222
- [43] 李志宏, 张福锁, 王兴仁. 我国北方地区几种主要作物氮营养诊断及追肥推荐研究 II: 植物硝酸盐快速诊断方法的研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 1997, 3(3): 268-274
- [44] 张树兰, 同延安, 赵护兵, 等. 冬小麦-夏玉米轮作氮肥施量与氮营养诊断[J]. *西北农业学报*, 2000, 9(2): 104-107
- [45] 衡利沙, 胡小宁, 杨张青, 等. 双波长反射法快速测定植株中的硝酸盐[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(3): 157-160
- [46] 李花粉, 杜森, 梁玉英, 等. 蔬菜硝酸盐试纸条-反射仪测定法与国标法比较研究[J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(4): 1596-1600
- [47] 陈锦玉, 和丽忠, 汪禄祥, 等. 反射仪法快速测定烤烟硝酸盐作氮素营养诊断及应用[J]. *中国农学通报*, 2002, 18(6): 39-42
- [48] 吴大付, 任秀娟, 李东方. 蔬菜硝酸盐含量测定方法研究[J]. *河南科技学院学报: 自然科学版*, 2010, 38(3): 36-38
- [49] 沙凌杰, 李正英, 朱丽, 等. 反射仪-硝酸根试纸法现场速测蔬菜硝酸盐水平及其应用[J]. *农业环境科学学报*, 2005, 24(5): 994-999
- [50] Schmidhalter U. Development of a quick on-farm test to determine nitrate levels in soil[J]. *J Plant Nutr Soil Sc*, 2005, 168: 432-438

责任编辑: 王燕华