

前 言

本标准是对 GB/T 7886—1987《森林植物与森林枯枝落叶层全氮的测定(凯氏法)》的修订。在修订中,对不符合国家法定计量单位标准的单位、不符合全国科学名词审定委员会公布的土壤学名词的名词予以修改;在编写上,按 GB/T 1.1—1993 的要求执行。

本标准采用凯氏消煮法,用硫酸钾-硫酸铜为加速剂的消煮法的消煮时间虽仍嫌较长,但只要控制好加速剂用量,不易导致氮素损失,消化程度容易掌握,测定结果稳定,准确度较高。消煮后氮的测定用靛酚蓝比色法、蒸馏法和扩散法。

自本标准实施之日起,原 GB/T 7886—1987 作废。

本标准由中国林业科学研究院林业研究所归口。

本标准起草单位:中国林业科学研究院林业研究所森林土壤研究室。

本标准主要起草人:张万儒、杨光滢、屠星南、张萍。

中华人民共和国林业行业标准

森林植物与森林枯枝落叶层 全氮的测定

LY/T 1269—1999

Determination of total nitrogen in forest
plant and forest floor

1 范围

本标准规定了采用凯氏法测定森林植物及森林落叶层全氮的方法。

本标准适用于森林植物及森林落叶层全氮的测定。

2 待测液的制备

2.1 方法要点

在硫酸铜与硫酸钾的存在下,用浓硫酸消煮植物样品,使植物中的氮素转变为硫酸铵。

2.2 试剂

2.2.1 混合加速剂:硫酸钾(K_2SO_4 ,化学纯)与硫酸铜($CuSO_4$,化学纯)以10:1混合,研细,使通过0.25 mm孔筛,贮于瓶中。

2.2.2 浓硫酸(密度1.84 g/mL,化学纯)。

2.3 主要仪器

调温电炉,凯氏烧瓶。

2.4 测定步骤

用台秤称取磨细的植物样品(叶子0.1 g,树枝、树皮、根或枯枝落叶层0.2 g,木材0.3 g),放在65℃恒温箱中烘干(24 h),用减量法称入凯氏瓶中(精确至0.0001 g),加1.0 g混合催化剂,摇匀,加数滴水使样品湿润,然后加5 mL浓硫酸,瓶口上放一盛有一粒玻璃珠的小漏斗,过夜。在烟柜中用调温电炉加热消煮,最初宜用小火,待无泡沫发生后,提高温度,但要控制瓶内缕状白烟回流的高度约在瓶颈上部的三分之一处,并须经常摇动凯氏瓶,勿使烧干,直到消煮液呈清亮后,再消煮20 min左右,冷却后加20 mL水,放置澄清后供全氮的测定。同时做两个试剂空白试验,以校正试剂误差。

3 氮的测定

3.1 靛酚蓝比色法

3.1.1 方法要点

氮在强碱性(pH 10.5~11.7)介质中与次氯酸盐和苯酚作用,生成水溶性染料靛酚蓝,溶液的蓝色很稳定,在0.05~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 氮范围内,其深浅与氮含量成正比可用比色法测定。硝普钠是反应的催化剂。20℃左右室温时一般放置1 h后比色,24 h内吸收值无显著变化,用625 nm比色,干扰金属离子可用EDTA等螯合剂掩蔽。该法显色稳定,用药量少,操作方便,测定结果准确。

3.1.2 试剂

3.1.2.1 苯酚溶液:10 g苯酚和0.1 g硝普钠[硝基铁氰化钠, $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$]分析纯,有剧

毒]溶于1 L水中。此试剂不稳定,须用现配或贮于暗色瓶,存放于冰箱中,用时温热至室温。

3.1.2.2 次氯酸钠碱性溶液:10 g 氢氧化钠(NaOH,分析纯),7.06 g 磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,分析纯),31.8 g 磷酸钠($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$,分析纯)和10 mL 52.5 g/L 次氯酸钠(NaOCl,即有效氯50 g/L的漂白剂溶液)溶于1 L水中。此试剂应与苯酚溶液同样保存。

3.1.2.3 掩蔽剂:400 g/L 酒石酸钾钠溶液与100 g/L EDTA二钠盐溶液等体积混合。每100 mL混合液中加0.5 mL 10 mol/L 氢氧化钠溶液,即得清亮的掩蔽剂溶液。

3.1.2.4 0.5 g/L 甲基红指示剂:0.05 g 甲基红溶于100 mL 乙醇中,变色范围pH 4.4(红)~pH 6.2(黄)。

3.1.2.5 1 mol/L 氢氧化钠溶液:4 g 氢氧化钠溶于100 mL 水中。

3.1.2.6 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氮(N)标准溶液:0.471 7 g 硫酸铵 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$,分析纯]溶于水,加10 mL 浓硫酸,用水定容到1 L。

3.1.2.7 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氮(N)标准溶液:吸取5 mL 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氮标准溶液于100 mL 容量瓶中,用水定容到标度。

3.1.3 主要仪器

分光光度计;容量瓶(50及100 mL)。

3.1.4 测定步骤

3.1.4.1 测定:消煮好的待测液,用水定容到100 mL(V_1),从其中吸取5 mL于100 mL 容量瓶中,用水定容到标度(V_2),摇匀。从 V_2 中吸取5 mL 溶液于50 mL 容量瓶中,加水到20 mL 左右,加入1滴0.5 g/L 甲基红,溶液呈淡红色,用1 mol/L 氢氧化钠溶液调到无色,用吸管加5 mL 10 g/L 苯酚溶液及5 mL 次氯酸钠碱性溶液,摇匀,在20°C左右室温下放置1 h后加1 mL 掩蔽剂以溶解可能生成的沉淀,然后用水定容。用1 cm 光径比色皿在625 nm 波长处进行比色测定,用试剂空白试验溶液调节仪器吸收值到零。

3.1.4.2 工作曲线的绘制:分别吸取5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氮标准溶液0,0.5,1,2,3,4,5 mL于50 mL 容量瓶中,按上述步骤显色。以0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氮标准系列溶液调吸收值到零,进行比色测定,以吸收值为纵坐标,氮($\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标,用方格纸绘制工作曲线。氮标准系列溶液的浓度相应地为0,0.05,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.1.5 结果计算

$$W_N = \frac{c \times V \times t_1}{m \times 10^3} \times 1000 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中: W_N ——全氮含量, g/kg;

c ——从工作曲线上查得显色液氮的浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

V ——显色液体积, 50 mL;

t_1 ——分取倍数 $\left(t_1 = \frac{V_1}{\text{从 } V_1 \text{ 吸取的毫升数}} \times \frac{V_2}{\text{从 } V_2 \text{ 吸取的毫升数}} = \frac{100}{5} \times \frac{100}{5} = 400\right)$;

m ——烘干样质量, g。

3.1.6 允许偏差

按表1规定。

表1 允许偏差

规定值 g/kg	绝对偏差 g/kg
50~30	2.5~1.5
30~10	1.5~1.0
10~1.0	1.0~0.2

注

- 1 掩蔽剂应在显色后加入,如加入过早,会使显色反应很慢,蓝色偏低;如加入过晚,则生成氢氧化物沉淀可能老化而不易溶解。在20℃左右时放置1h即可加掩蔽剂。
- 2 甲基红不可多加,不然会影响比色。
- 3 植物氮含量10g/kg为低量,20g/kg为中量,大于30g/kg为高量。刺槐、紫穗槐等豆科的叶片含氮超过30g/kg。

3.2 蒸馏法

3.2.1 方法要点

待测液中的硫酸铵,用氢氧化钠碱化,加热蒸馏出氨,经硼酸吸收,用标准酸滴定其含量。

3.2.2 试剂

3.2.2.1 400g/L 氢氧化钠溶液;400g 氢氧化钠加水1L。

3.2.2.2 甲基红-溴甲酚绿混合指示剂;0.066g 甲基红与0.099g 溴甲酚绿于玛瑙研钵中研细,溶于100mL 乙醇中,变色范围pH4.4(红)~5.4(蓝)。

3.2.2.3 20g/L 硼酸溶液;20g 硼酸(H_3BO_3 ,分析纯)加水1L。

3.2.2.4 20g/L 硼酸-指示剂溶液;100mL 20g/L 硼酸溶液中加入2mL 甲基红-溴甲酚绿混合指示剂。

3.2.2.5 0.0200 mol/L $\frac{1}{2}Na_2B_4O_7$ 标准溶液;1.9068g 硼砂($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$,分析纯)溶于水后,移入500mL 容量瓶中,用水稀释至标度。

标定硼砂必须保存于相对湿度60%~70%的空气中,以确保硼砂含10个水合水。通常可在干燥器的底部放置氯化钠和蔗糖的饱和溶液(并有二者的固体存在),密闭容器中空气的相对湿度即为60%~70%。

3.2.2.6 1 mol/L 盐酸溶液;42mL 浓盐酸,用水定容至500mL。

3.2.2.7 0.02 mol/L 盐酸标准溶液;吸取20mL 1 mol/L 盐酸溶于1L 容量瓶中,加水稀释至标度,充分摇匀,用0.0200 mol/L $\frac{1}{2}Na_2B_4O_7$ 标准溶液标定。

吸取20mL 0.0200 mol/L $\frac{1}{2}Na_2B_4O_7$ 标准溶液于100mL 锥形瓶中,加1滴甲基红-溴甲酚绿混合指示剂,用待标定的盐酸溶液滴定,由蓝变紫红色为终点。同时做三个重复试验。用式(2)计算盐酸标准溶液浓度:

$$c = \frac{0.0200 \times V_1}{V_2 - V_0} \dots\dots\dots (2)$$

式中: c ——盐酸标准溶液的浓度, mol/L;

V_1 —— $\frac{1}{2}Na_2B_4O_7$ 标准溶液的体积, mL;

V_2 ——滴定硼砂用去盐酸标准溶液的体积, mL;

V_0 ——滴定空白试验用去盐酸标准溶液的体积, mL;

0.0200—— $\frac{1}{2}Na_2B_4O_7$ 标准溶液的浓度, mol/L。

3.2.3 主要仪器

定氮蒸馏装置;锥形瓶(250 mL)。

3.2.4 测定步骤

3.2.4.1 蒸馏:往250mL 锥形瓶中加入15mL 20g/L 硼酸-指示剂溶液,将锥形瓶置于定氮蒸馏装置冷凝器的承接管下,管口置于硼酸液液面上3~4cm 处。把盛有全部消煮液的凯氏瓶安装在蒸馏装置上,打开冷凝水。经三通管加入30mL 400g/L 氢氧化钠溶液。立即打开蒸汽夹,以每分钟8mL 速度进行蒸汽蒸馏,当锥形瓶内溶液达半小时,用广泛pH 试纸在冷凝管口测试蒸馏液,如无碱性反应,表示

氨已蒸馏完毕；否则需继续蒸馏。

3.2.4.2 滴定：吸收在硼酸溶液中的氨，用 0.02 mol/L 盐酸标准溶液滴定，由蓝到紫红色为终点，记下用去的盐酸标准溶液的毫升数 (V)，同时进行试剂空白试验。

3.2.5 结果计算

$$W_N = \frac{(V - V_0) \times c \times 0.014}{m} \times 1\,000 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中： W_N ——全氮含量，g/kg；

V ——滴定样品用去盐酸标准溶液体积，mL；

V_0 ——滴定试剂空白试验用去盐酸标准溶液体积，mL；

c ——盐酸标准溶液的浓度，mol/L；

m ——烘干样质量，g；

0.014——氮原子的摩尔质量，g/mmol。

3.2.6 允许偏差

按表 1 的规定。

注：混合指示剂最好在使用时与硼酸溶液混合，如混合过久则可能有终点不灵敏的现象发生。

3.3 扩散法

3.3.1 方法要点

扩散皿内圈盛硼酸溶液，外圈放待测液（含 0.05~0.3 mg 氮）后加入氢氧化钠溶液，密封，产生的氨扩散在皿内，由硼酸溶液吸收，直接用标准酸滴定。

3.3.2 试剂

3.3.2.1 碱性胶水：40 g 阿拉伯胶加 50 mL 水，加热至 70~80℃，搅拌促溶，放冷，加 20 mL 甘油及 20 mL 饱和碳酸钾（15 g 碳酸钾加水 15 mL），再调匀，离心除去泡沫。

3.3.2.2 0.01 mol/L 盐酸标准溶液：吸 10 mL 1 mol/L 盐酸于 1 L 容量瓶中，用水定容到标度，以 0.020 0 mol/L $\frac{1}{2}\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 标准溶液标定其精确浓度（标定方法同 3.2.2.7）。

3.3.2.3 200 g/L 氢氧化钠溶液：200 g 氢氧化钠加水 1 L。

3.3.2.4 其他试剂同 3.2.2.2, 3.2.2.3, 3.2.2.4。

3.3.3 主要仪器

扩散皿（外圈 10.0 cm）；微量滴定管；容量瓶（100 mL）。

3.3.4 测定步骤

煮沸好的待测溶液转移到 100 mL 容量瓶中，用水定容到标度，摇匀。

吸取上述溶液 5 mL 于扩散皿的外圈及 3 mL 20 g/L 的硼酸-指示剂溶液于内圈，扩散皿边缘上用毛笔涂上碱性胶水，盖上毛玻璃（光滑的一面在上）旋转皿盖勿使漏气，推动毛玻璃把外圈有缺口的一边露出一条狭缝，用注射器从缺口处加入 8 mL 200 g/L 氢氧化钠溶液，立即盖严毛玻璃，然后把两个皿重叠在一起，十字交叉地套上两根橡皮筋，放入恒温箱中于 40℃ 保温 24 h，在此期间轻轻地水平摇动 2~3 次。

从恒温箱中取出扩散皿，去盖，用 0.01 mol/L 盐酸标准溶液滴定皿内吸收氨的硼酸溶液，由蓝到紫红色为终点。

3.3.5 结果计算

$$W_N = \frac{(V - V_0) \times c \times t \times 0.014}{m} \times 1\,000 \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中： W_N ——全氮含量，g/kg；

V ——测定样品时消耗的盐酸标准溶液体积，mL；

V_0 ——试剂空白试验消耗的盐酸标准溶液体积，mL；

c ——盐酸标准溶液的浓度, mol/L;

t_s ——分取倍数 $\left[t_s = \frac{\text{消煮液定容体积 (mL)}}{\text{吸取待测液体积 (mL)}} = \frac{100}{5} \right]$;

m ——烘干样质量, g;

0.014——氮原子的摩尔质量, g/mmol。

3.3.6 允许偏差

按表 1 的规定。

注

- 1 由于碱性胶液的碱性很强, 在涂胶液和洗涤扩散皿时, 必须特别细心, 谨防污染内室, 致使造成错误。
- 2 滴定时要用细玻璃棒小心搅动吸收液, 切不可摇动扩散皿。