

doi:10.3969/j.issn.2095-1035.2022.01.014

离子选择电极阵列测定土壤中硝态氮

苏睿¹ 苑锋¹ 吴俊锋¹ 位文涛¹ VIJAYA Raghavan² 胡建东^{1,3*}

(1. 河南农业大学机电工程学院, 河南省农业激光技术国际联合实验室, 郑州 450002;

2. McGill 大学生物资源工程系, 加拿大 蒙特利尔 H9X 3V9;

3. 小麦玉米作物学国家重点实验室, 郑州 450002)

摘要 土壤硝态氮反映土壤短期氮素供应水平, 实时了解土壤硝态氮的含量为精准农业和农业面源污染防治提供支撑, 因此, 在线实时检测土壤硝态氮方法突破就显得十分迫切。土壤硝态氮中的硝酸根离子在土壤中的高水溶性和流动性为全固态硝酸根离子选择电极高敏感检测土壤中硝态氮提供了条件, 固态硝态氮离子选择电极的离子选择膜反应硝酸根离子在被测溶液中的浓度。采用全固态硝酸根离子选择电极 ELIT NO₃⁻, 且与温度电极和 pH 电极融合组成电极阵列对土壤饱和溶液中的硝酸根离子进行检测。设计了高输入阻抗运算放大电路对电极信号进行采集, 并通过微处理控制蠕动泵完成土壤硝态氮待测溶液连续流动测定及实时传输结果。实验结果表明, 电极响应时间 ≤ 15 s, 斜率 -51.63 mV/decade, 线性范围 10⁻⁵ ~ 10^{-2.2} mol/L, 最低检测限 10^{-5.23} mol/L。相对标准差在 0.78% ~ 4.5%, 加标回收率均在 90.0% ~ 110%。与紫外可见分光光度法测试结果相比, 相关系数(R²)为 0.995 2, 为土壤硝态氮在现场检测奠定技术基础。

关键词 面源污染; 硝态氮(NO₃⁻-N); 电极阵列; 固态离子选择电极(ISE)

中图分类号: O657.15 文献标志码: A 文章编号: 2095-1035(2022)01-0091-06

Determination of Nitrate Nitrogen in Soil by Ion-Selective Electrode Array

SU Rui¹, YUAN Feng¹, WU Junfeng¹, WEI Wentao¹, VIJAYA Raghavan², HU Jiandong^{1,3*}

(1. Henan International Joint laboratory of Laser Technology in Agriculture Science, College of Mechanical and Electrical Engineering, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China;

2. Department of Bioresource Engineering, McGill University, Montreal H9X3V9, Canada;

3. State Key Laboratory of Wheat and Maize Crop Science, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract Soil nitrate nitrogen reflects the short-term soil nitrogen supply level, real-time determination of nitrate nitrogen is a powerful method for precision agriculture and reducing agricultural non-point source pollution. High water solubility and mobility of nitrate ions in soil, it provides the conditions for the rapid and sensitive detection of nitrate nitrogen in soil by all-solid ion selective electrode. The all-solid nitrate ion

收稿日期: 2021-11-13 修回日期: 2021-12-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(3201890); 国家重点研发计划项目(2017YFD0801204); 农业生物资源工程技术外籍科学家工作室项目(GZS2021007)

作者简介: 苏睿, 女, 硕士研究生, 主要从事农业电气化与自动化研究。E-mail: su13723119890@163.com

* 通信作者: 胡建东, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事农业电气化与自动化研究。E-mail: jdhu@henau.edu.cn

引用格式: 苏睿, 苑锋, 吴俊锋, 等. 离子选择电极阵列测定土壤中硝态氮[J]. 中国无机分析化学, 2022, 12(1): 91-96.

SU Rui, YUAN Feng, WU Junfeng, et al. Determination of Nitrate Nitrogen in Soil by Ion-Selective Electrode Array[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2022, 12(1): 91-96.

selective electrode was optimized and fused with temperature electrode and pH electrode to form an electrode array for the detection of nitrate nitrogen in saturated soil solution. An operational amplifier with high input impedance is designed to collect the electrode signal, the continuous flow measurement of soil nitrate nitrogen solution to be measured and the transmission of test results were completed by controlling the peristaltic pump through micro-treatment. The experimental results show that the electrode response time is less than or equal to 15 s, the slope is -51.63 mV/decade , the linear range is $10^{-5} - 10^{-2.2} \text{ mol/L}$, the minimum detection limit is $10^{-5.23} \text{ mol/L}$, the relative standard deviation of standard addition is within $0.78\% - 4.5\%$, and the recovery of standard addition is within $90.0\% - 110\%$. The correlation coefficient (R^2) was 0.995 2 with the national standard method of ultraviolet-visible (UV-Vis) spectrophotometry is in line with the development requirements of on-site measurement equipment.

Keywords non-point source pollution; nitrate nitrogen; electrode array; solid state ion selective electrode

硝态氮是土壤中重要的无机氮肥,可直接被作物吸收利用,土壤中硝态氮的含量是作物当季氮肥施用量估算和生育期追肥诊断的主要依据,增施氮肥是农业增产的重要措施之一,其含量的检测是田间养分管理的重要指标^[1-3]。由于硝酸根离子的高水溶性、流动性和生物降解性使它极易受环境温度和农田灌溉及降水的影响而发生变化^[4-5]。农用肥料和动物粪便中存在大量硝态氮,随着农田灌溉及降水等原因,过剩的硝态氮会经过淋溶和地表径流流入河湖和地下水导致水体富营养化^[6-8]。同时,高浓度的营养物质已被确定为结直肠癌和非霍奇金淋巴瘤的潜在原因^[9]。因此,土壤硝态氮的实时测定是精准施肥、作物养分管理和污染监控的重要环节^[10-11]。

为实现土壤硝态氮原位实时测定,已尝试了电化学法、光谱法,目前实验室普遍使用光谱方法,与光谱方法相比电化学传感器测量方法具有快速、灵敏、测量范围广、成本低等优点^[12-14]。ADAMCHUK等人开发了利用离子选择电极(ISE)直接土壤测试系统(DSM),用于土壤养分分析和空间变异特征监测,与实验室检测相比硝酸根检测结果相关系数(R^2)仅在 $0.41 \sim 0.51$ ^[15]。KIM等^[16]使用NPK三种离子选择电极与一个参比电极组成传感器阵列测定土壤提取物中的硝态氮浓度与常规实验室测定方法相关系数(R^2)为 0.89 。研究人员开发了一种基于离子选择电极测定土壤养分测绘系统,该系统通常安装在重型农用车上,用于绘制穿越农场地形时的土壤状况^[17]。TULLY等^[18]使用ISE测量的土壤溶液硝态氮浓度与比色法进行了比较相关系数(R^2)为 0.96 。

为了实现基层科学施肥、促进农业可持续发展、保证农民便捷操作,本论文结合电化学与流动分析

法设计了一个全自动、低成本、便捷、易操作的实时土壤硝态氮测定系统。优选了全固态硝酸根离子选择电极,且与温度电极和pH电极融合组成电极阵列,并通过微处理控制蠕动泵完成土壤硝态氮待测溶液的连续流动测量及测试结果的传输。采用微处理器对电化学传感器信号采集、处理、存储、传输和控制蠕动泵流动传输样品并与上位机相互传输。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

硝酸根全固态离子选择电极(ISE)、pH电极、温度传感器(EA Instruments Limited公司),紫外可见分光光度计(南京菲勒仪器有限公司)。

硝酸钠和氯化钾购自国药化学试剂(上海)有限公司,用于配制一系列硝酸盐标准溶液和土壤浸提液。所有试剂均为分析纯(AR)等级,溶液均使用去离子水配制。

1.2 实际样品的处理

采集许昌市($113^{\circ}47'08''\text{E}$, $34^{\circ}09'35''\text{N}$)和潜江市($112^{\circ}39'07''\text{E}$, $30^{\circ}18'23''\text{N}$)麦田土壤。采用五点取样法采集土壤样品,取样位置为 $0 \sim 20 \text{ cm}$ 表层土。

1.3 电化学土壤硝态氮测试原理

固态离子选择电极具有体积小、响应快等特点,便于在田间实时测定土壤硝态氮。离子选择电极是一种利用膜电位测定溶液中离子活度或浓度的电化学传感器,当将电极浸入待测溶液时,溶液中的游离待测离子将会扩散于电极膜外侧直至内外浓度达到平衡,这样在膜内侧就形成一个电层,称为膜界电位差,它与外部溶液中的待测离子数量成比例。离子浓度(活度)与电极电位之间的关系用Nernst方程表示

$$E = E_0 \pm \frac{z}{n} \frac{303RT}{F} \lg \alpha \quad (1)$$

式中, E 为电极检测电势, mV; E_0 为电极标准电势, mV; R 为气体常数, 取 $8.314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$; T 为绝对温度, K; F 为法拉第常数, 取 $96487 \text{ C}/\text{mol}$; z 为待测离子所带电荷数; α 为待测离子活度。

1.4 土壤硝态氮实时测定系统设计方案

土壤硝态氮实时测定系统如图 1c 所示, 将土样放入系统的样品池内, 通过液晶触摸屏或手机 APP 控制系统开始工作。首先电子秤自动称重并发送数据至微处理器, 由微处理器控制步进电机调节搅拌器高度至样品池内, 微处理器根据土壤重量计算并控

制蠕动泵通入去离子水使用搅拌器充分搅拌 3 min。通过蠕动泵抽取搅拌完成的溶液至过滤器, 再使用蠕动泵抽取过滤池中上层清液至检测单元。电极阵列由硝酸根电极与 pH 电极、温度传感器组合形成, 同时测定土壤硝态氮含量、pH 值和温度, 其中硝酸根电极选择了英国 Electro Analytical Instruments 公司“三明治结构”的全固态离子选择电极 ELIT NO_3^- 。电极阵列产生检测电势通过放大电路后进行阻抗匹配(图 1a), 然后通过 AD 转换电路将测得信号传输到树莓派微处理器进行计算, 检测数据通过树莓派的蓝牙模块与手机相互通讯, 如图 1b。测定完成后微处理器控制蠕动泵通入去离子水自动清洗。

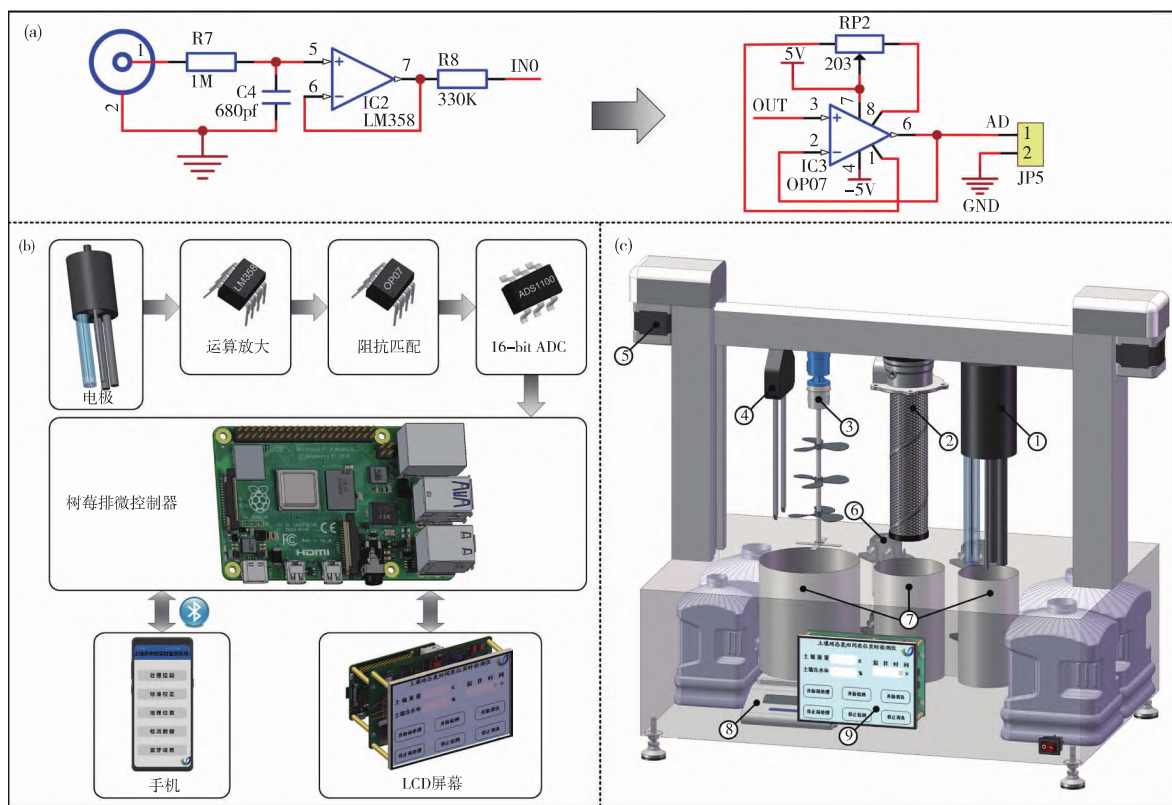


图 1 离子选择电极阵列硝态氮快速测定系统组成 (a)放大电路和阻抗匹配电路;(b)电路设计流程图;
(c)土壤硝态氮实时测定系统:①组合电极阵列;②过滤器;③搅拌器;④土壤含水率传感器;⑤步进电机;
⑥蠕动泵;⑦样品池;⑧电子秤;⑨液晶触摸屏和控制电路

Figure 1 The system components of nitrate nitrogen measurement using ions selective electrode. (a) Amplification circuit and impedance matching circuit; (b) Diagram of the Electric Control Circuit Design; (c) Real-time determination system of soil nitrate nitrogen: ①Combination electrode array; ②Filter; ③Stirrer; ④Soil water content sensor; ⑤Stepper motor; ⑥Peristaltic pump; ⑦Sample cell; ⑧Electronic scale; ⑨LCD touch screen and control circuit

2 结果与分析

2.1 离子选择电极系统的响应时间

当将电极浸入有硝酸根离子的待测溶液时,溶液中的游离硝酸根离子将会扩散于电极固态 PVC 膜外侧,直至内外浓度达到平衡。这样在膜内侧就形成一个电层,称为膜界电位差,它与外部溶液中的硝酸根离子浓度的对数成比例。

根据国际纯化学与应用化学联合会(IUPAC)的建议,达到平衡电位值将电势变化达到总变化量的 95% 所需要的时间定义为响应时间。随着硝酸根离子浓度的提高,实时测定系统对标准样品的响应时间越快,如图 2 所示,平衡电势可在 15 s 内完成响应。

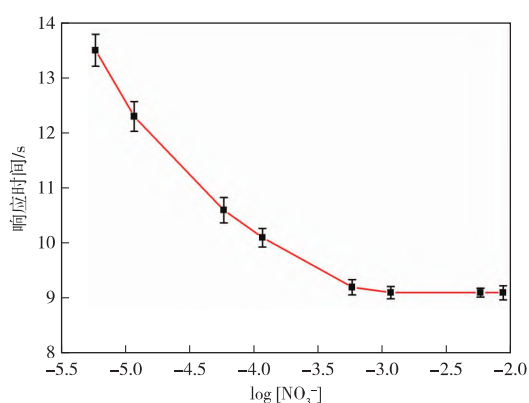


图 2 土壤硝态氮实时测定系统对标准样品响应时间
Figure 2 Response time of soil nitrate nitrogen real-time measurement system to standard sample

2.2 离子选择电极系统的灵敏度

根据国际纯化学与应用化学联合会(IUPAC)规定,由低至高浓度检测一系列的硝态氮标准溶液,测定不同浓度(15 000、1 000、750、500、100、50、10、5、1、0.5、0.1、0.05 mg/kg)下硝态氮的响应电压。测定完成根据数据绘出硝酸根离子浓度对数与离子选择电极(ISE)响应电压的线性关系图。由图 3a 可知,离子斜率为 -51.63 mV/decade 处于理论值($54 \pm 5 \text{ mV/decade}$)合理范围内。线性范围可确定为 $10^{-5} \sim 10^{-2.2} \text{ mol/L}$,如图 3b 所示。空白试剂重复 11 次测得的检出限($LOD=3S/b$ 。其中 S 为 11 次测定值的标准偏差, b 为接近 LOD 标准曲线的斜率)为 $10^{-5.23} \text{ mol/L}$ 。

2.3 离子选择电极系统的准确度和精密度

在自动测定条件下,筛选 21 个土壤样品进行检测,采用五点取样法采集土壤样品。首先添加标准

样品,计算加标回收率来评价系统的准确性,如表 1 所示,加标回收率在 90.0%~110%。每个样品测试 7 次,计算得各验证样本的相对标准差(RSD)为 0.78%~4.5%。结果表明,离子选择电极系统具有的准确度和精密度,可以满足土壤硝态氮的现场检测需求。

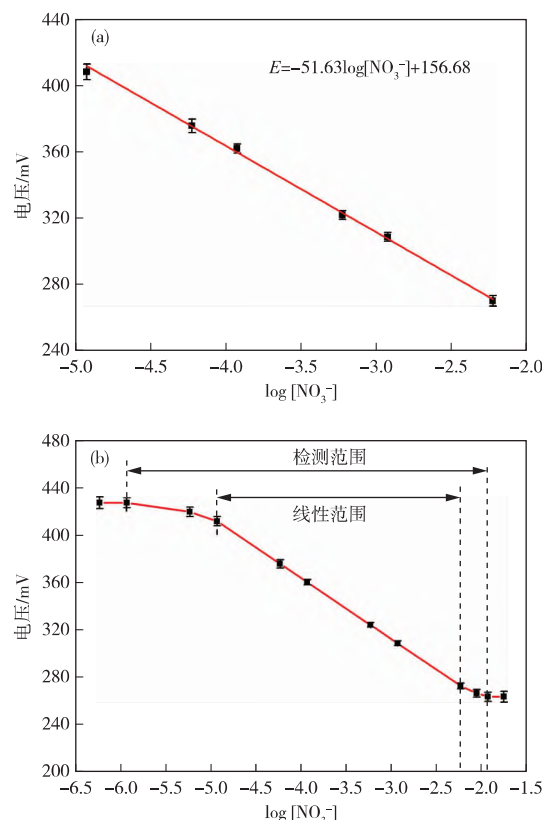


图 3 土壤硝态氮实时测定系统
(a)标准曲线;(b)检测范围

Figure 3 Soil nitrate nitrogen real-time measurement system.
(a)Standard curve;(b)Detection range

2.4 与紫外可见分光光度法测定结果比对

选择 21 个土壤样品分别使用离子选择电极系统和紫外分光光度法测定,测定结果如图 4a 所示,两者 R^2 可达到 0.995 2,两个检测系统测定的结果具有较好的线性关系。将测得数据通过 GraphPad Prism 软件进行 Bland-Altman 一致性分析,Bland-Altman 法作为新的图形分析法,从集中趋势、离散趋势、同步变化程度多角度评价新旧检验方法或检验系统的一致性,弥补了 t 检验、相关分析和回归分析的不足。分析两种检测系统的相对偏移,两种检测系统的测定结果一致性较好,测定值均在 95% 一致性区间内,见图 4b。综上所述,相较于复杂的光学检测仪器,该仪器成本低,操作便捷,适用于田间

土壤硝态氮实时检测。

表 1 土壤硝态氮实时测定系统加标回收率和相对标准偏差

Table 1 Recovery and RSD of soil nitrate nitrogen real-time measurement system

样品	硝态氮含量/(mg · kg ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
1	166.97	98.8	2.5
2	186.53	98.1	2.2
3	165.56	98.7	2.5
4	264.25	102	1.8
5	112.80	103	1.6
6	15.88	109	1.8
7	23.64	108	3.9
8	6.83	93.3	4.0
9	48.15	94.9	2.9
10	83.68	96.2	4.0
11	44.23	94.8	2.7
12	68.48	104	4.5
13	71.59	104	4.4
14	65.52	104	2.8
15	64.10	104	2.2
16	45.19	94.9	2.9
17	135.45	97.6	1.7
18	203.61	102	2.2
19	270.89	103	1.8
20	626.64	99.0	0.78
21	453.72	101	1.2

3 结论

采用全固态硝酸根离子选择电极,且与温度电极和 pH 电极融合组成电极阵列,设计了一个土壤硝态氮实时测定系统,通过微处理控制蠕动泵完成土壤硝态氮待测溶液的连续流动测量及测试结果的传输。相对于标准样品,系统响应时间≤15 s,斜率为 51.63 mV/decade。线性范围在 10⁻⁵~10^{-2.2} mol/L 内,最低检测限为 10^{-5.23} mol/L。相对标准差在 0.78%~4.5%,加标回收率均在 90.0%~110%。使用土壤硝态氮实时测定系统对许昌市和潜江市土壤样品进行测定,与国家标准测定紫外分光光度法测定的结果相关性 R² 可达到 0.995 2,通过 Bland-Altman 一致性分析,测值均在 95% 一致性区间内,两种方法测值差异无统计学意义,具有较好的一致性。该系统在响应时间、灵敏度、准确度和精确度多方面能满足现场检测要求。

参考文献

[1] 张振华. 作物硝态氮转运利用与氮素利用效率的关系[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(1): 217-223.
ZHANG Zhenhua. The relationship between nitrate transport and utilization in crop and nitrogen utilization efficiency[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2017, 23(1): 217-223.

[2] 寇长林, 骆晓声, 巨晓棠. 优化施氮对设施番茄土壤硝态氮残留及土壤氮平衡的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(5): 837-848.
KOU Changlin, LUO Xiaosheng, JU Xiaotang. Effects of optimal nitrogen fertilization on N balance and nitrate-N accumulation in greenhouse tomato fields[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2021, 27(5): 837-848.

[3] 梁元振, 仝利朋, 吴德亮, 等. 有机无机肥配施对土壤硝态氮、玉米产量和氮素利用率的影响[J]. 玉米科学, 2017, 25(4): 111-116.
LIANG Yuanzhen, TONG Lipeng, WU Deliang, et al. Effects of organic manure combined with inorganic fertilizer on soil nitrate, maize yield and N use efficiency[J]. Journal of Maize Sciences, 2017, 25(4): 111-116.

[4] 胡雅璐, 马瑞, 孙自永, 等. 河水和地下水相互作用带中硝酸盐浓度影响因素研究—以黑河中游临泽河段为例[J]. 安全与环境工程, 2016, 23(1): 40-46.
HU Yalu, MA Rui, SUN Ziyong, et al. Influencing factors of nitrate concentrations in river water and

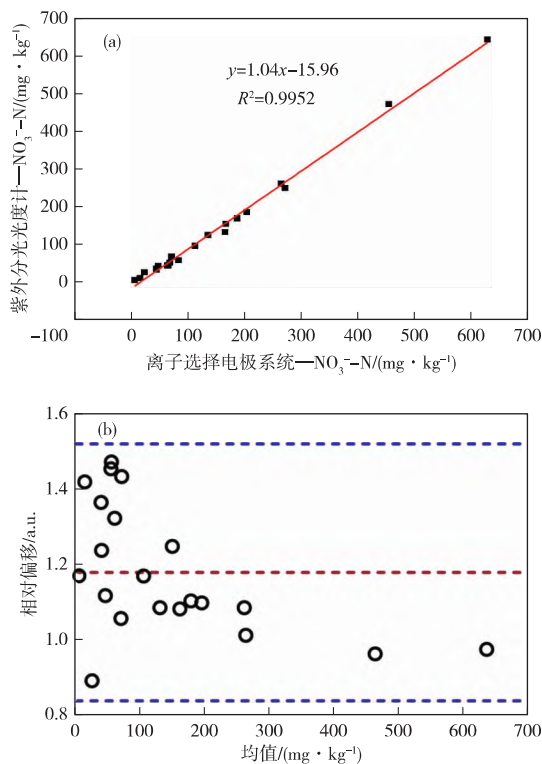


图 4 (a)土壤硝态氮实时测定系统与紫外分光光度计测定结果的相关性;(b)Bland-Altman 图

Figure 4 (a)Correlation between the results from ISE system and UV-Vis spectrophotometry;(b)Bland-Altman diagram.

- groundwater interaction zone—A case study in the middle reaches of Heihe river at Linze, northwestern China [J]. *Safety and Environmental Engineering*, 2016, 23(1):40-46.
- [5] 张辉,宋琳,陈晓琳,等. 土壤退化的原因与修复作用研究[J]. *海洋科学*, 2020, 40(8):147-161.
ZHANG Hui, SONG Lin, CHEN Xiaolin, et al. Study on the causes and remediation of soil degradation[J]. *Marine Sciences*, 2020, 40(8):147-161.
- [6] 马林,柏兆海,王选,等. 中国农牧系统养分管理研究的意义与重点[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(3):406-416.
MA Lin, BAI Zhaohai, WANG Xuan, et al. Significance and research priority of nutrient management in soil-crop-animal production system in China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(3):406-416.
- [7] 李裕元,李希,孟岑,等. 我国农村水体面源污染问题解析与综合防控技术及实施路径[J]. *农业现代化研究*, 2021, 42(2):185-197.
LI Yuyuan, LI Xi, MENG Cen, et al. Analysis of agricultural non-point source pollution issue in waters and technical strategy of comprehensive prevention and control in rural area of China[J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2021, 42(2):185-197.
- [8] 营娜,麻金继,周丰,等. 中国农田肥料 N_2O 直接和间接排放重新评估[J]. *环境科学学报*, 2013, 33(10):2828-2839.
YING Na, MA Jinji, ZHOU Feng, et al. Re-quantification of the direct/indirect N_2O emissions from agricultural fertilizer in China[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(10):2828-2839.
- [9] MARY W, RANA J, JEAN B, et al. Drinking water nitrate and human health: An updated review[J]. *Environmental Research and Public Health*, 2018, 15(7):1557.
- [10] 兰冠宇,李鹰,俞晓峰,等. 超级微波消解-电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定土壤中 13 种元素[J]. *中国无机分析化学*, 2021, 11(5):1-8.
LAN Guanyu, LI Ying, YU Xiaofeng, et al. Determination of 13 elements in soil by inductively coupled plasma mass spectrometry with ultra-microwave digestion[J]. *Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry*, 2021, 11(5):1-8.
- [11] 李亚楠,王昊丹,屈红蕊,等. 基于 GIS 的村级小麦玉米高产高效管理系统构建与验证[J]. *中国生态农业学报*, 2019, 27(7):1124-1133.
LI Yanan, WANG Haodan, QU Hongrui, et al. Establishment and assessment of management systems for wheat and maize with high yield and nitrogen use efficiency based on GIS at the village level[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2019, 27(7):1124-1133.
- [12] 陈颖,何磊,崔行宁,等. 基于紫外光谱的水体硝酸盐浓度混合预测模型研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2019, 39(5):489-494.
CHEN Ying, HE Lei, CUI Xingning, et al. Study on mixed prediction model of nitrate concentration in water based on ultraviolet spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2019, 39(5):489-494.
- [13] 宋书会,王汝健,辛宇,等. 全波长扫描式多功能读数仪-分光光度法测定土壤中无机氮[J]. *中国无机分析化学*, 2019, 9(2):35-41.
SONG Shuhui, WANG Rujian, XIN Yu, et al. Rapid determination of inorganic nitrogen in soil by spectrophotometry with a microplate reader [J]. *Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry*, 2019, 9(2):35-41.
- [14] 张森,盛明雅,张丽楠,等. 基于电极阵列的土壤速效养分快速检测系统[J]. *农业机械学报*, 2012, 43(增刊 1):277-282.
ZHANG Miao, SHENG Mingya, ZHANG Li'nan, et al. Development of soil available macronutrients detection system based on ion-selective electrodes array [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2012, 43(S1):277-282.
- [15] ADAMAHUK V, LUND E, SETHURAMASAMYRAJA B, et al. Direct measurement of soil chemical properties on-the-go using ion-selective electrodes[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2005, 48(3):272-294.
- [16] KIM H, HUMMEL J, SUDDUTH K, et al. Simultaneous analysis of soil macronutrients using ion-selective electrodes [J]. *Soil Science Society of America*, 2007, 71(6):1867-1877.
- [17] SIBLEY K, ASTATKIE T, BREWSTER G, et al. Field-scale validation of an automated soil nitrate extraction and measurement system [J]. *Precision Agriculture*, 2009, 10(2):162-174.
- [18] TULLY K, WEIL R. Ion-selective electrode offers accurate, inexpensive method for analyzing soil solution nitrate in remote regions[J]. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 2014, 45(14):1974-1980.