

用气相色谱法测定微生物反硝化作用中产生的一氧化二氮

余晓华¹⁾ 杨卫明²⁾ 许维海³⁾ 江蕴华¹⁾

摘要 利用气相色谱法,选用国产聚合物固定相 GDX-104,在 3m 的柱子上成功地分离和测定了反硝化作用中产生的 N_2O ,从而可得出反硝化作用在不同条件下的反应速率,对于研究土壤中反硝化作用的动态有直接意义。

关键词 N_2O ;反硝化作用;气相色谱法;乙炔阻断

土壤微生物反硝化作用是土壤氮素以气体产物逸失的最主要途径,有资料表明,这种损失可达土壤中无机态氮的十分之一^[1];同时,它又是促成亚硝酸盐和硝酸盐在自然界中分解的一个良好方法。因此,影响反硝化作用的各种因素也成为人们探讨提高土壤肥效、改良土壤和环境保护的一个重要部份^[2,3]。在用乙炔阻断技术的前提下,通过测定反硝化作用中所产生的一氧化二氮(N_2O)的变化,可得出反硝化作用在不同条件下的反应速率^[3,4],对于研究这一过程的动态有直接意义。

用气相色谱法测定微生物反硝化作用中产生的 N_2O ,国外仅报导过用 Porapak-Q 聚合物固定相在 6 米长的柱子上进行过样品的分离测定^[2,4,5]。国内在反硝化作用的模拟实验中,大

都采用化学分析方法测定试样中的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 等一系列参数,从而得知反硝化作用的反应速率^[2]。但由于化学分析法操作繁琐,分离速度慢等给上述测定带来了一定困难。

用气相色谱法,选用国产的聚合物固定相 GDX-104,在 3m 的柱子上成功地分离和测定了反硝化作用中产生的 N_2O 。定量测定的最低限度为 2.0‰(体积百分含量)。误差在 2% 以下。

方法与结果

(一) 仪器和操作条件

- 1) 云南微生物研究所,昆明
- 2) 云南大学化学系,昆明
- 3) 云南勐海县景真糖厂

SC-4 型气相色谱仪：四川分析仪器厂生产。

纯一氧化二氮：广州气体厂出产。

热导检测器；桥电流：150mA。

色谱柱：3m × 4mm 不锈钢柱。

固定相：GDX-104 (60—80 目)。

载气：氢气；流速：50ml/min。

柱温：40℃；检测室温度：60℃。

(二) 定性

样品中的 N_2O 及 CO_2 、 CH_4 、 H_2O 均用纯样品对照定性，其色谱图见图 1。

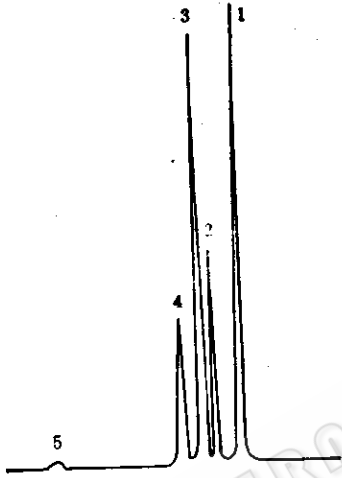


图 1 样品的气相色谱分析
1. 空气峰 2. CO_2 峰 3. N_2O 峰
4. CH_4 5. 水蒸气峰

(三) 标准曲线的制作

本法用外标法^[6,7]定量。其标准曲线根据样品含量分三段。第一段为 2‰—9.90‰ (体积百分含量,下同);第二段为 1%—10%;第三段为 7.4%—24.2%。每一段用不同的进样量,测出峰高,用峰高对 N_2O 浓度作图。得出各个浓度梯度的标准曲线(图 2a, b, c)。

标准曲线测定结果表明 N_2O 含量在 2‰—24% 范围内,都有良好的线性关系。

(四) 分析结果的精确度和准确度

我们将昆明船房河兰化沟铁路桥边采集底泥和水样用乙炔阻断后,测定其 N_2O 含量。先后测定 12 批约 108 个样品,每个样品重复 3—

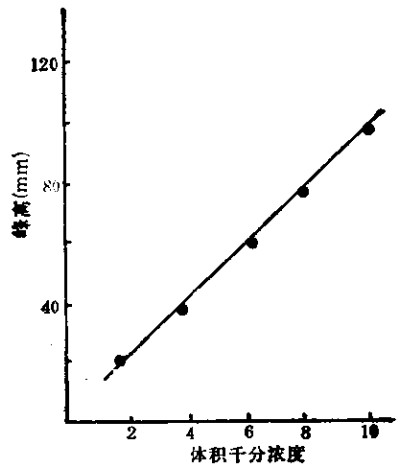


图 2-a

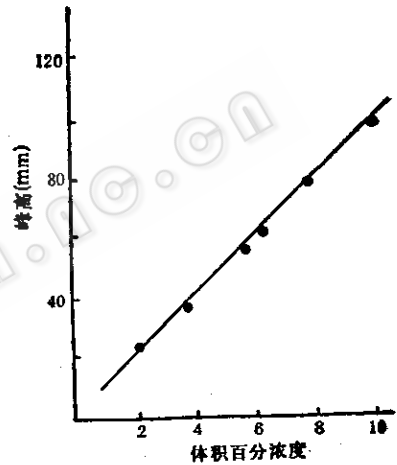


图 2-b

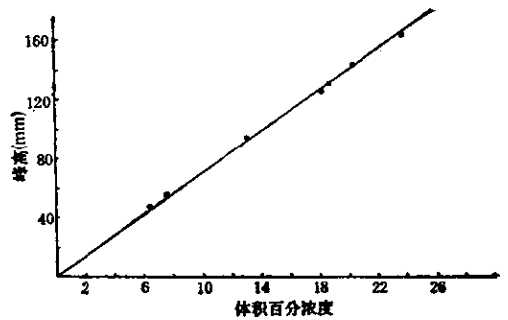


图 2-c

图 2 以不同进样量测峰高,用峰高对 N_2O 浓度得出各浓度梯度的标准曲线图

5 次,共 300 多个样次。(此项分析样品由昆明工学院环境工程系孔云虹同志提供。)从其测

表1 本方法的精密度和准确度

浓度范围	含量样品	测定次数					平均值	标准误差
		1	2	3	4	5		
2—9.9‰	A	52.0	51.7	51.9	50.8	52.2	51.72‰	±0.4450
	B	44.3	44.0	44.1	44.2	44.1	44.14‰	±0.0983
1—10%	A	7.45	7.42	7.46	7.44	7.40	7.434%	±0.0219
	B	5.70	5.75	5.55	5.72	5.75	5.684%	±0.3454
7.4—24.2%	A	7.40	7.43	7.39	7.42	7.40	7.408%	±0.0147
	B	8.70	8.69	8.73	8.71	8.70	8.706%	±0.0136

定结果看出本方法的精密度满足分析要求,反应了该项研究中应有的规律性^[8]。准确度符合色谱分析要求,误差在色谱允许范围内。现将部份分析数据列举如下(表1)。

讨 论

1. 本法测定微生物反硝化作用中产生的 N_2O 操作简便、快速、重复性好,数据可靠。为研究反硝化作用的机理,提供了一有力手段。

2. 本法取样量少,在实验过程中可频繁地进行测量分析而不影响样品的组成。

3. 定量线性范围广。

4. 在测量大量样品后,由于水蒸气聚积,有时会对分析出现干扰,但只需升高温度,用载气

吹几小时便可克服。

参 考 文 献

- [1] E. W. 睹塞尔等,谭德文译:土壤条件与植物生长,科学出版社, p. 266, 1979年。
- [2] 王永华等:环境化学, 3(3): 19, 1984。
- [3] 陈华癸等主编:微生物学,农业出版社, p. 182, 1979年。
- [4] Van Raslt C. D. and D. G. Patriquin: *Marine Biology*, 52: 315—320, 1979。
- [5] Chan Y. and R. Knowles: *Appl. Environ. Microbiol.*, 37: 1067—1072, 1979。
- [6] Triska F. J. and R. S. Oremeand: *Appl. Environ. Microbiol.*, 42: 745—748, 1981。
- [7] 成都科学技术大学分析化学教研室编:分析化学手册上册色谱分析,化学工业出版社, p. 236—238, 1984年。
- [8] 孔云虹:云南大学硕士研究生学位论文摘要,第二集, p. 94. 1987年。