doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2013.S2.041

土壤硝态氮自动检测平台研究*

张丽楠　张　淼　蒲　攀　张集恬

(中国农业大学现代精细农业系统集成研究教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要: 为了快速、低成本获取土壤硝态氮含量,以自制硝酸根掺杂聚吡咯(PPy(NO_3^-))离子选择电极为传感手段,自主开发了多通道土壤硝态氮自动检测平台。以实验室配制的质量浓度为 1 ~ 250 mg/L 的硝态氮标准溶液为实验材料,分别对平台响应时间、清洗次数对平台标定及土壤样本检测结果的影响进行了研究。实验结果显示,平台系统用于土壤硝态氮检测时的响应时间为 40 s;进行系统标定和土壤浸提溶液检测时,用下一待测溶液对平台进行清洗 2 次即可达到理想效果,此应用方式下得到的平台检测结果与手动方式测得的结果相当,且平台的不同检测通道之间具有相似的检测性能和良好的一致性。基于 20 个土样的系统验证结果显示,平台系统的土壤硝态氮检测结果与紫外分光光度法检测结果之间具有较好的相关性,决定系数为 0.91。

关键词: 硝态氮　土壤自动检测平台　离子选择电极　测土配方施肥

中图分类号: S151.9+5; S126　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-1298(2013)S2-0220-06

Automatic Detection Platform for Soil Nitrate-nitrogen

Zhang Li'nan　Zhang Miao　Pu Pan　Zhang Jitian

(*Key Laboratory of Modern Precision Agriculture System Integration Research*, *Ministry of Education*, *China Agricultural University*, *Beijing* 100083, *China*)

Abstract: In order to detect soil nitrate-nitrogrn content rapidly with low cost, an automatic multi-channel detection platform for soil nitrate-nitrogrn was developed. The self-designed PPy(NO_3^-) ion selective electrode (ISE) was used to sense the nitrate ion in solutions. The platform response time, effects of rinsing time on platform calibration and soil nitrate-nitrogen detection were discussed with a series of standard nitrate solutions, nitrate-nitrogen contents of which were ranging from 1 ~ 250 mg/L. Testing results showed that response time of the platform was 40 s when it was used in soil nitrate-nitrogrn detection. During system calibration and soil nitrate extracts determination, rinsing operation for the system could be carried out directly with the next sample solution. And rinsing 2 times could achieve a desirable effectiveness. No significant differences were got between the results detected separately by the platform and manual operation. Also, different channels of the platform possessed similar detection performances and good consistency. The system validation results conducted with 20 soils indicated that satisfied correlation was obtained between the soil nitrate-nitrogen results detected with the platform and ultraviolet spectrophotometric method. The determination coefficient (R^2) was 0.91.

Key words: Nitrate-nitrogen　Soil automatic detection platform　Ion-selective electrode　Soil testing for formulated fertilization

引言

农业要发展,粮食要增产,对化肥的依赖越来越突出。为了追求粮食高产,在经济较发达地区盲目施氮和过量施氮现象普遍,造成了资源浪费、农产品

收稿日期: 2013-06-28　修回日期: 2013-07-05

*国家自然科学基金资助项目(31201136、61134011)和高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20110008120023)

作者简介: 张丽楠,博士生,主要从事农业电气化与自动化研究,E-mail: nannan817@163.com

通讯作者: 张淼,讲师,博士,主要从事农业电气化与自动化研究,E-mail: zhangmiao@cau.edu.cn

品质降低和环境污染等一系列负面影响。土壤硝态氮水平是评价土壤氮素丰缺的重要指标之一，检测土壤硝态氮含量对指导农民科学施用氮肥、实现土壤氮素精细管理起着重要的作用。

土壤硝态氮的常规检测以光学方法为主，主要包括酚二磺酸比色法、镉柱还原法和紫外分光光度法[1~3]等，检测结果准确可靠，但光学检测仪器价格昂贵，样本前处理过程复杂耗时，仪器使用及试剂溶液的制备需专业操作，还有一些试剂（如镉柱等）可对环境造成二次污染，制约了我国测土配方施肥项目在基层的推广应用。相比之下，离子选择电极因具有响应速度快、成本低、操作简单，易于集成等优点[4]而受到农业工程师们的青睐，以此为传感手段的土壤硝态氮快速检测研究有了较好的开展[5~8]。尽管基于离子选择电极技术的土壤硝态氮快速分析研究取得了较大进展，但迄今尚未有一个成熟的低成本快速检测平台系统在基层成功推广应用。

以建设乡镇公共服务机构，推进测土配方施肥项目实施提供技术支持为目标，本研究基于离子选择电极技术和流体控制技术，搭建土壤主要养分自动检测平台系统，通过实验确定平台系统在土壤硝态氮检测中的工作方式，并对其应用可行性进行评估。

1　实验材料与方案

1.1　实验材料

吡咯单体、硝酸钠（$NaNO_3$）、硝酸钾（KNO_3）、硫酸钠（Na_2SO_4）试剂购自北京试剂公司，试剂均为分析纯等级。所用溶液由去离子水配制而成。玻碳基底电极（ø3 mm）购自天津艾达恒晟科技发展有限公司。

1.2　实验仪器

1.2.1　传感器

离子选择电极是一种能够对特定目标离子产生特异性选择响应的电化学传感器，与参比电极和待测溶液组成一个二电极体系，其浓差膜电势与待测溶液中的目标离子活度（浓度）之间服从能斯特方程[9]。本研究所用的硝酸根离子选择电极为自制（PPy(NO_3^-)）离子选择电极，该电极在已有研究成果的基础上，通过恒电流法将掺杂硝酸盐的聚吡咯膜电镀在玻碳基底电极上制备而成[10]。与之构成电位测量二电极体系的参比电极为天津艾达恒晟科技发展有限公司生产的 Ag/AgCl 参比电极。

1.2.2　土壤主要养分自动检测平台

基于 MSP430F149 单片机开发了多通道土壤主要养分自动快速检测平台，该平台由溶液自动传输系统、数据采集系统和上位机组成，硬件实物如图 1 所示。

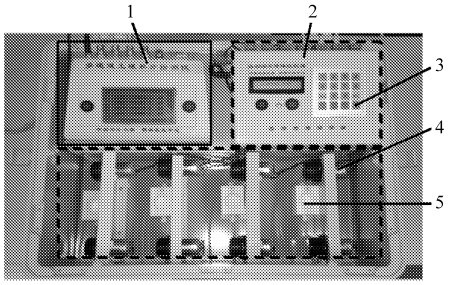

图 1　土壤硝态氮自动检测平台实物图

Fig. 1　Soil nitrate-nitrogen automatic detection platform

1. 多通道数据采集系统　2. 土壤浸提溶液自动传输系统　3. 进样控制器　4. 蠕动泵　5. 检测池

溶液自动传输系统包括控制器、微型蠕动泵、检测池和导液管，控制器带有键盘输入功能，可直接输入控制信息；微型蠕动泵在控制器的驱动作用下实现标准溶液和土壤浸提溶液由样品杯到检测池再至废液池的自动传送，减少了人工操作。数据采集器为前期研究成果，主要由电源模块、信号调理模块、模数转换模块、主处理器模块、温度检测模块、液晶显示模块、串口通信模块和 JTAG 模块组成[11]。

用 Visual C + + 6.0 开发了上位机软件，工作界面如图 2 所示。通过与数据采集系统通信，上位机可实现数据采集系统检测通道和溶液温度检测项目的选择，并能对离子选择电极电势检测结果及溶液温度检测结果进行显示和保存。

图 2　平台软件界面

Fig. 2　Interface of platform software

平台工作时，首先通过控制器键盘输入实验中需要开通的检测通道编号、待测样本个数和标定溶液个数信息；然后，按需选择系统的工作模式，即进入系统标定模式或土壤样本浸提溶液检测模式，每

份溶液检测结束后系统询问是否在当前模式下进行下一溶液的检测,用户通过键盘作出判断。每检测10 个土样则重新进行一次系统标定。溶液检测时,为避免交叉污染,先将检测池和电极清洗干净,然后再由上位机启动数据采集系统静态读取电极响应达到稳定状态时的电势。平台的具体工作流程如图 3 所示。

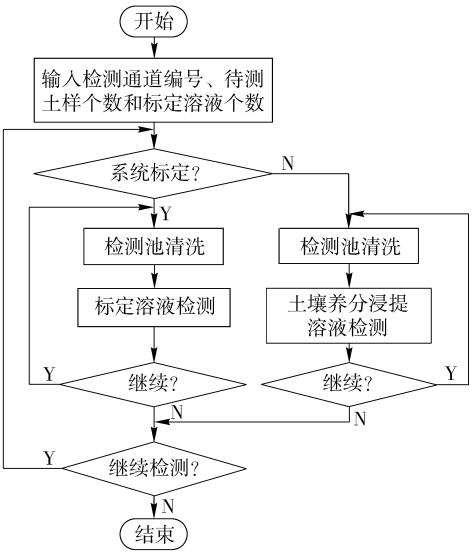

图 3 平台工作流程图

Fig. 3 Flowchart of platform

1.3 实验方案

平台响应时间和清洗操作过程中的清洗次数都是土壤硝态氮自动检测平台的重要参数,直接关系到平台检测结果的准确性。因此,测定平台响应时间和开展清洗次数对平台检测结果的影响研究十分必要。

开展平台响应时间实验时,首先根据土壤中的硝态氮水平配制不同浓度的硝酸根标准溶液,然后按照硝酸根离子浓度从小到大的顺序在平台系统第1检测通道中依次检测,从离子选择电极与参比电极同时被浸入待测溶液时起每隔 5 s 记录一次平台检测结果,直至平台检测结果稳定时结束记录。两种标准溶液检测间,用去离子水清洗平台,待洗至空白电位后,进行下一标准溶液检测。通过对比分析,得到平台响应时间。

同理,配制一系列不同质量浓度梯度的硝态氮标准溶液,开展清洗次数对平台标定的影响实验。溶液检测仍按照硝酸根离子浓度从小到大的顺序进行,分别采用手动标定方法和平台标定方法。手动标定时,先将上述标准溶液分别倒入不同烧杯中进行检测,待一个标准溶液检测完毕后,用去离子水冲洗电极,并用吸水纸吸干电极表面的水分,之后再对下一个标准溶液进行测定;平台标定时,先将硝酸根电极和 Ag/AgCl 参比电极集成至检测平台,然后进行溶液测定,两不同标准溶液检测间直接用下一个待测标准溶液进行检测平台的冲洗。记录不同清洗次数下的平台标定结果,并与手动方法下得到的标定结果进行对比,分析清洗次数对平台标定结果的影响。

考虑到实际土壤样本检测时,无法保证下一土壤样本的硝态氮质量浓度总是低于已测样本,因此平台标定方式与土壤样本检测方式可能存在区别。为此,以硝酸根标准溶液模拟土壤硝态氮养分浸提溶液,设计互冲实验,即将上述标准溶液均作为上一组测定溶液,每组实验只选用一组标准溶液作为下一待测溶液,记录用下一待测溶液清洗检测平台不同次数后的检测结果。每组实验重复 3 次,以求取平均值(AV)和变异系数(CV)。

2 实验结果与分析

2.1 平台响应时间

根据报道,土壤硝态氮的平均质量浓度为 27.8 mg/L[3]。课题组前期对采自全国不同作物种植区的 65 个土壤样本的硝态氮分析结果显示,农田土壤硝态氮质量浓度高达 200 mg/L[12]。因而,配制了 1、5、25、100 和 250 mg/L 5 个不同质量浓度的硝酸根标准溶液用于实验,检测平台响应时间检测结果如图 4 所示。

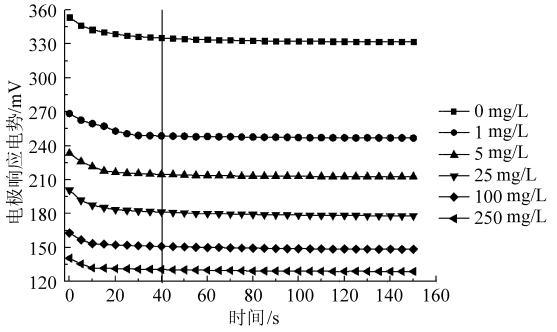

图 4 检测平台响应时间

Fig. 4 Response time of detection platform

根据国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)关于将离子选择电极响应时间的定义,将从离子选择电极与参比电极同时被浸入待测溶液时起,直至平台检测结果达到某一给定区间内(如稳定值 ± 1 mV 内)所需要的时间记作平台响应时间。由图 4 可知,当检测溶液中的硝态氮质量浓度为 100 mg/L 和 250 mg/L 时,平台检测结果在 20 s 内基本达到稳定状态;当硝态氮质量浓度降低至 1 mg/L 时,平台响应所用时间延长至 40 s。总体而言,平台响应时间随检测溶液离子浓度的降低而增长,但在 40 s 内均可达到响应稳定状态。因此,将平台系统的响应时

间参数设定为 40 s。

2.2　清洗次数对平台标定的影响

配制 1、5、10、25、50、250 mg/L 6 个质量浓度的硝酸根标准溶液，并选定平台的第 1 检测通道开展了清洗次数对平台标定的影响实验。为了更好地避免因交叉污染带来的测量误差，分别测定了用待测标准溶液清洗 1、2、3、4 次后的平台标定结果，并对清洗效果进行分析评价，以得到最优清洗次数，结果如表 1 所示。

表 1　清洗次数对平台标定的影响结果

Tab. 1　Effects of rinsing time on platform calibration

mV

硝态氮质量浓度/mg·L^{-1}	手动方法	平台系统			
		清洗 1 次	清洗 2 次	清洗 3 次	清洗 4 次
1	246.7	250.5	247.0	246.8	246.6
5	207.6	209.7	207.9	207.7	207.6
10	189.5	191.9	190.1	190.0	190.0
25	167.8	170.4	167.9	168.0	167.9
50	150.8	153.0	150.7	150.8	150.8
250	112.1	114.1	112.0	112.0	111.9

由表 1 可以看出，平台系统标定过程中，当待测标准溶液中硝酸根离子浓度大于上一组检测溶液的硝酸根离子浓度时，用待测溶液清洗平台 2 次及 2 次以上所得到的检测结果基本一致，且与手动方法得到的检测结果十分接近，而清洗平台系统 1 次所得的电极电势较清洗多次的电极电势高 1.8 ~ 4 mV。基于清洗 2 次得到的平台检测结果，先进行浓度转换，然后建立硝态氮质量浓度对数与检测结果之间的关系，浓度转换公式为

$$c'_N = \frac{0.001 c_N}{14} \tag{1}$$

式中　c_N——溶液中硝态氮质量浓度，mg/L

c'_N——对应的硝酸根离子浓度，mol/L

手动方法得到的标定曲线斜率为 56.6 mV/decade，决定系数 R^2 为 0.99；平台系统所得标定方程的斜率为 56.3 mV/decade，决定系数也为 0.99。对比两结果可知，平台标定结果与手动标定结果相当。因此，对平台系统进行标定时，用下一待测标准溶液冲洗检测池和电极 1 次不能达到理想的清洗目的，而冲洗 2 次后的效果较好，将最优清洗次数设定为 2 次。

基于上述标定方式，在平台的其他 3 个检测通道进行验证，同时对 4 个通道标定结果的一致性进行对比，对比结果如表 2 所示。

表 2　不同通道标定结果的一致性对比

Tab. 2　Comparison of calibrations in different channels

硝态氮质量浓度/mg·L^{-1}	通道 1		通道 2		通道 3		通道 4	
	AV/mV	CV/%	AV/mV	CV/%	AV/mV	CV/%	AV/mV	CV/%
1	246.8	0.7	246.2	1.1	246.2	0.2	246.0	0.9
5	207.8	0.1	207.5	0.7	207.7	0.3	207.7	0.8
10	190.2	0.2	190.0	0.7	189.6	0.3	190.1	0.7
25	168.2	0.3	167.6	0.6	167.6	0.4	167.5	0.9
50	151.0	0.3	150.9	0.7	150.9	0.5	151.1	0.9
250	112.0	0.1	112.2	1.0	112.1	0.4	112.1	1.1

表 2 结果表明，在优化后的标定方式下，同一浓度硝酸根标准溶液在不同检测通道中的检测结果非常相近，且每个通道重复测定 3 次所得结果的变异系数可控制在 1.5% 以内。计算得平台检测通道 2、通道 3 和通道 4 的响应斜率均为 56.0 mV/decade，决定系数 R^2 均为 0.99，与手动方法得到的响应斜率接近。因此，平台系统的各通道之间既展现出良好的检测性能，又具有较好的一致性。在平台使用时，可同时对 4 个溶液样本并列测定，以提高检测效率，缩短样品检测时间。

2.3　清洗次数对土壤样本检测结果的影响

前期研究成果[12]显示，适用于电极法的土壤样本前处理最优土液比为 1∶2.5（10 g 土∶25 mL 水），即土壤硝态氮实际含量为土壤浸提溶液中硝态氮含量的 2.5 倍。为此，选用去离子水、2.5、10、25、50 和 100 mg/L 硝酸根标准溶液模拟土壤硝态氮养分浸提溶液，开展了清洗方式和清洗次数对土壤样本检测结果影响实验，实验结果如图 5 所示。图中横坐标为上一检测溶液的样本编号，编号 1 ~ 6 所指代的硝态氮质量浓度分别为去离子水、2.5、10、25、50 和 100 mg/L，纵坐标为平台系统对当前溶液的检测结果。

由图 5a 可知，平台系统用于土壤硝态氮测定，且待测溶液为去离子水时，用其对检测系统进行清洗，若上一个检测样本溶液的硝态氮质量浓度低于 2.5 mg/L，则 2 次清洗后即可达到良好的清洗效果，但随上一个检测样本溶液中硝态氮含量的增加（尤其当硝态氮大于 2 mg/L 时），电极“记忆效应”更为

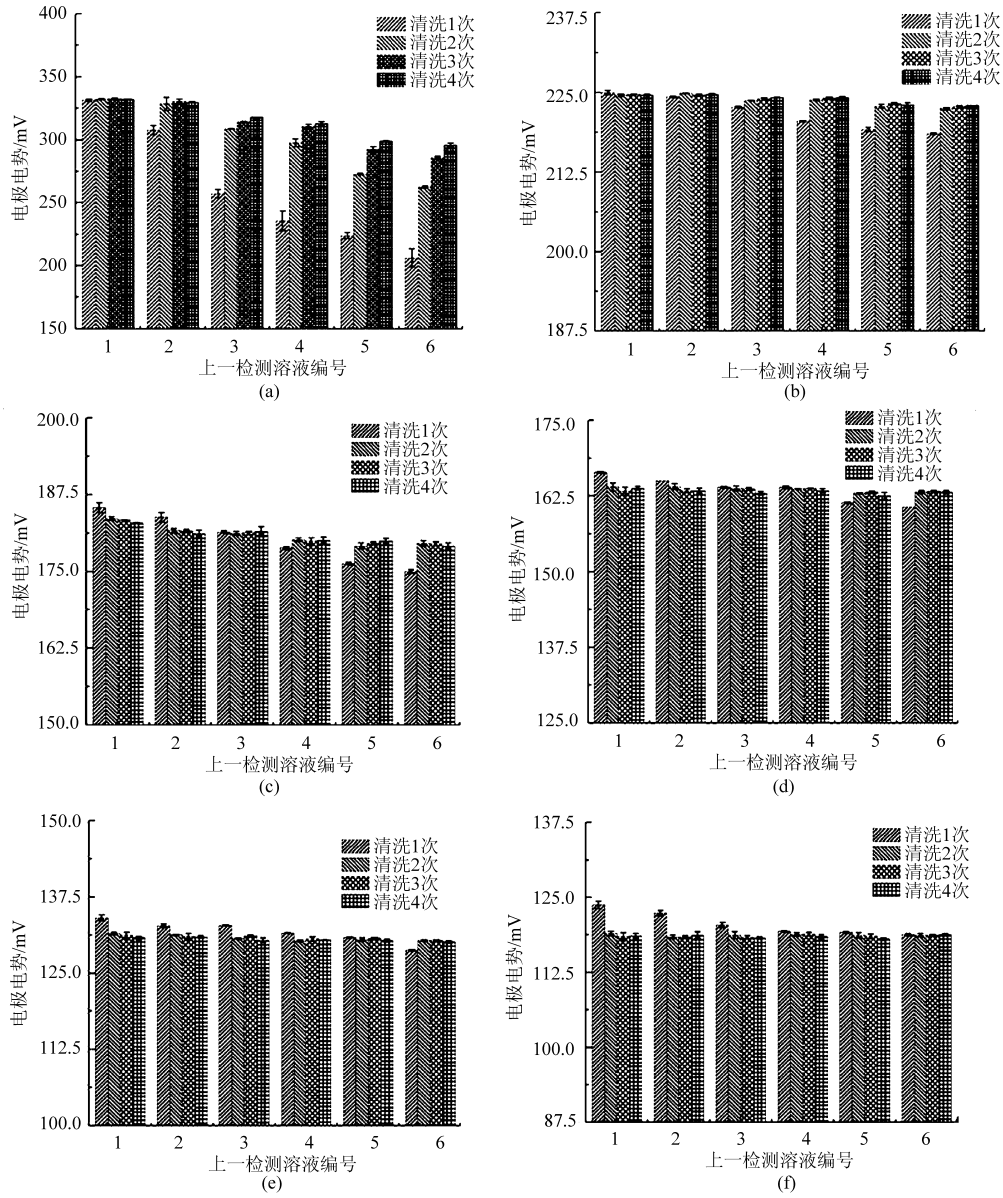

图 5 清洗次数对土壤样本检测结果的影响

Fig. 5 Effects of rinsing time on soil detection results

(a) 待测溶液为去离子水 (b) 待测溶液硝态氮质量浓度为 2.5 mg/L (c) 待测溶液硝态氮质量浓度为 10 mg/L (d) 待测溶液硝态氮质量浓度为 25 mg/L (e) 待测溶液硝态氮质量浓度为 50 mg/L (f) 待测溶液硝态氮质量浓度为 100 mg/L

突出,电极也更难清洗至空白电位;图 5b ~ 5f 的结果表明,待测样本溶液的硝态氮质量浓度大于等于 2.5 mg/L,上一个检测样本溶液的硝态氮质量浓度低于 100 mg/L 时,无论上一检测溶液中硝态氮的质量浓度低于或高于待测样本溶液中的硝态氮质量浓度,直接用待测溶液清洗检测池和电极 2 次得到的检测结果与清洗 2 次以上得到的结果相当,此情况下得到检测结果的变异系数与清洗 2 次以上时得到的变异系数无明显差异,所有检测结果的变异系数均小于 1%。因此,该平台系统用于土壤硝态氮浸提液检测时,可直接用待测土样的硝态氮浸提液冲洗检测平台,不需要增加去离子水清洗环节。

3 系统验证

用采自全国不同粮食种植区的 20 个土壤样品对平台系统用于土壤硝态氮测定时参数设定的合理性及其在实际应用中的效果进行检验和初步评价。此批次土样涵盖了不同的土壤类型和土壤有机质含量,具有一定的代表性。将土样首先用恒温烘干箱在 60℃条件下干燥 24 h,然后经粉碎机粉碎处理,过 200 目筛。每个土样用四分法[3]取两份,一份用 25 mL 1 mol/L KCl 溶液对 2.5 g 土样进行硝态氮浸提,振荡时间为 30 min,经中速定量滤纸过滤得到的澄清滤液与质量分数 10% H_2SO_4 溶液、去离子水按体积比 1∶2∶9进行酸化处理,然后在紫外可见分光

光度计的 210 nm 处测定吸光度；另一份土样则用 25 mL 去离子水对 10 g 土样进行土壤硝态氮浸提，振荡时间为 15 min，经中速定量滤纸过滤得到的澄清滤液用自主设计的平台系统直接检测。20 个土样的硝态氮检测结果如图 6 所示。

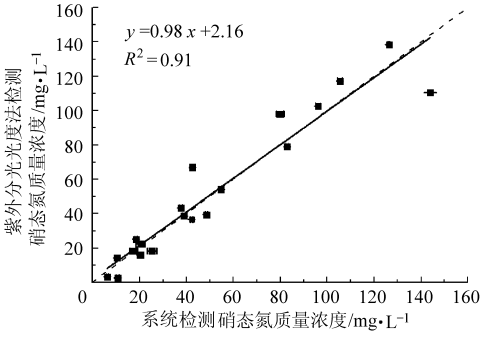

图 6　系统验证结果

Fig. 6　Results of system validation

从图 6 中可以看出，当土壤硝态氮质量浓度在 2 ~ 140 mg/L 之间时，平台系统的检测结果与紫外分光光度法检测结果之间具有很好的一致性，其线性回归方程的比例系数接近于 1，决定系数为 0.91。这一结果初步验证了该平台系统用于实际土壤硝态氮检测时的响应时间参数设定、标定方式和土壤样本检测方式具有一定的合理性，该系统基本满足土壤硝态氮的检测需要。

4　结论

（1）该平台用于硝态氮溶液检测时，预留 40 s 的响应时间；进行系统标定和土壤样本的硝态氮浸提溶液检测时，可省略了用去离子水冲洗的操作步骤，直接用下一待测标准溶液清洗检测平台 2 次即可达到理想效果，且在该方式下得到的平台检测结果与手动方式下得到的检测结果相当；平台系统的 4 个通道之间具有良好的检测性能和一致性。

（2）基于 20 个实际土壤样本的验证实验结果显示，土壤硝态氮自动检测平台的分析结果与常规紫外分光光度法检测结果之间具有较好的一致性，决定系数可达 0.91，初步表明土壤硝态氮自动检测平台在土壤硝态氮检测中具有一定的可行性。

参　考　文　献

1　史瑞和，鲍士丹. 土壤农化分析[M]. 2 版. 北京：中国农业出版社，1994.

2　Keeney D R, Nelson D W. Nitrogen-inorganic forms[M]//Page A , Miller R H, Keeney D R. Methods of soil analysis. Part 2 chemical and microbiological properties (Second Ed.). Madison: Soil Science Society of America, 1982: 643 ~ 689.

3　白由路，杨俐萍，金继运. 测土配方施肥原理与实践[M]. 北京：中国农业出版社，2007.

4　Kim H J, Sudduth K A, Hummel J W. Soil macronutrient sensing for precision agriculture[J]. Journal of Environmental Monitoring, 2009, 11(10): 1 810 ~ 1 824.

5　Adsett J F, Thottan J A, Sibley K J. Development of an automatic on-the-go soil nitrate monitoring system[J]. Applied Engineering in Agriculture, 1999, 15(4): 351 ~ 356.

6　Adamchuk V I, Morgan M T, Ess D R. An automated sampling system for measuring soil pH[J]. Transactions of ASAE, 1999, 42(4): 885 ~ 891.

7　Adamchuk V I, Lund E, Sethuiamasamyraja B, et al. Direct measurement of soil chemical properties on-the-go using ion selective electrodes[J]. Computer and Electronics in Agriculture, 2005, 48(3): 272 ~ 294.

8　张淼，Ang S S, Chien N V, 等. 基于离子选择电极的硝酸盐快速检测系统[J]. 农业工程学报，2009, 25(增刊 2): 235 ~ 239.
Zhang Miao, Ang S S, Chien N V, et al. Rapid nitrate detection system based on ion-selective electrode[J]. Transactions of CSAE, 2009, 25(Supp. 2): 235 ~ 239. (in Chinese)

9　Allen J, Larry R F. Electrochemical methods: fundamental and applications[M]. New York: John Wiley and Sons Ltd. , 2001: 92 ~ 256.

10　张淼. 基于电化学原理的土壤硝态氮快速检测技术研究[D]. 北京：中国农业大学，2009.
Zhang Miao. Rapid detection of soil nitrate-nitrogen based on electrochemical principle[D]. Beijing: China Agricultural University, 2009. (in Chinese)

11　张丽楠. 多通道土壤养分快速采集信号分析处理器的研究与开发[D]. 北京：中国农业大学，2011.
Zhang Li'nan. Research and development of a multi-channel data acquisition and processor for soil nutrient rapid detection[D]. Beijing: China Agricultural University, 2011. (in Chinese)

12　Zhang L N, Zhang M, Sheng M Y, et al. Optimization of pretreatment parameters for ISE-based soil NO_3^--N detection[J]. International Agricultural Engineering Journal, 2013, 22(1): 61 ~ 69.