

样品前处理对氮同位素组成测试的影响*

王周锋^{1,2}, 刘卫国¹, 王政¹

(1. 中国科学院地球环境研究所, 黄土与第四纪地质国家重点实验室, 西安 710075; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:氮同位素组成作为一个有效的示踪氮素循环的指标在生理学、生态学等领域的氮素研究中得到广泛应用。对比不同的研究我们发现,其样品的前处理方法不尽相同,可能会影响结果之间的有效对比。通过对比不同前处理方法对样品氮同位素组成和氮含量的影响,结果表明:样品用 105℃ 杀青然后 40℃ 烘干和直接用 40℃ 烘干,氮同位素组成没有显著差异;氮含量的测定也表明,不同的处理方法没有对氮含量造成显著的差异。因此认为杀青或者不杀青不会对植物样品的氮同位素组成和氮含量测试造成显著的影响。

关键词:氮同位素组成;氮含量;杀青

中图分类号:Q946.1;O657.63

文献标识码:A

文章编号:1005-3409(2008)06-0250-02

The Effects of Sample Pretreatment Methods on ¹⁵N Testing

WANG Zhou-feng^{1,2}, LIU Wei-guo¹, WANG Zheng¹

(1. State Key Laboratory of Loess and Quaternary Geology, Institute of Earth Environment, CAS, Xi'an 710075, China; 2. Graduate University of CAS, Beijing 100039, China)

Abstract: ¹⁵N can be used to trace the nitrogen cycle in ecosystems, and thus are potential tools to investigate the nitrogen cycles in context of plant physiology and ecology. Recent studies have shown that the variation of pretreatment method may affect sample ¹⁵N. In this study, we investigated the effects of different pretreatment method on sample ¹⁵N and nitrogen content. The results show that no difference was found for sample ¹⁵N and nitrogen content by pretreatment of high temperature desiccation under 105℃ and then drying under 40℃ or drying under 40℃ only. The results imply that no effect was found for sample pretreatment on sample ¹⁵N and nitrogen content.

Key words: ¹⁵N; nitrogen content; high temperature desiccation

氮是控制陆地、淡水和海洋生态系统中物种组成、生物多样性、动态变化和功能的关键元素之一^[1]。近年来由于人类活动的增强(农业、化石燃料的燃烧以及其他的一些人类活动)改变了氮循环的尺度,从而影响到生态系统的正常运转,因此氮素的循环成为目前国际研究的热点^[2]。氮稳定同位素作为研究氮素循环的一个非常有用的指标在氮素的研究中得到广泛应用^[3-4]。然而不同的研究者对样品的前处理方法不一样^[5-6]。一些研究者认为对于植物样品的研究中,样品前处理需要杀青来杀死样品中酶的活性,从而抑制酶对样品成分的分解^[7]。但是也有研究认为,在氮素的研究过程中,由于植物体中铵态氮等氮素的易挥发性,样品可用不低于 40℃ 的低温长时间进行干燥^[8]。对于这一问题的不确定性,限制了对不同来源数据的比较和分析。因此,研究不同烘干方法对植物氮同位素组成和氮含量的影响,以期为更好地进行氮的测定提供数据支持。

1 实验材料与方法

1.1 主要仪器和装置

Flash EA 和 Delta Plus 联用系统:CE FLASH III2 型元

素分析仪是意大利 Carlo Erba 公司产品,配 Autosampler AS200 型自动进样器;Finnigan Delta plus 质谱仪是美国热电(Thermo)公司产品,备有连续流装置 Conflo。

1.2 实验材料

样品采集于中国科学院地球环境研究所,采集 4 种不同的植物叶片(表 1),用蒸馏水冲洗干净,沥干水分,然后将叶片从中脉处分成两部分,一部分直接置于 40℃ 鼓风干燥箱中烘干(48 h),另一部分叶片首先在 105℃ 下杀青 30 min,然后取出置于 40℃ 鼓风干燥箱中烘干(48 h)。烘干样品研磨后进行氮同位素组成和氮含量测试。

1.3 实验条件

样品测试在中国科学院地球环境研究所同位素实验室进行。用 Finnigan 公司生产的 EA-Delta plus 质谱仪测试样品的 ¹⁵N 和氮含量,其中氮同位素组成的计算公式为

$$^{15}\text{N}(\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (1)$$

R 为 ¹⁵N/¹⁴N,氮标准为大气氮,偏差 ±0.3‰,含量偏差 ±0.1%。

EA 氧化炉温度设置为 980℃,还原炉温度设置在

* 收稿日期:2008-03-06

基金项目:国家自然科学基金项目(40673012, 40523002 和 40121303);中国科学院方向性项目(KZCX3-SW-139);黄土与第四纪地质国家重点实验室开放基金资助项目(SKLLQG 0613)资助

作者简介:王周锋(1979-),男(汉族),陕西岐山人,博士研究生,主要从事氮稳定同位素生物地球化学研究。E-mail:wangzf@ieecas.cn

650 ,样品测试时间设置为 1 800 s/ Sample。被测样品紧密包裹在锡舟中送入氧化炉,在过氧环境中瞬间高温分解(约 1 800) ,形成的碳、氮、氧、硫各成分混合氧化气体(CO₂ ,NO₂ ,SO₂ 等) ,在高纯氮气的运载下经还原和分离得到 N₂ ,通过 Conflo 装置送入质谱仪,以高纯氮气作为参考标准测定氮同位素比值和氮含量^[9]。

表 1 样品信息

植物名称	拉丁名	样品序号
海桐	<i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.) Ait.	1
三叶草	<i>Trifolium repens</i> L.	2
龙爪槐	<i>Sophora japonica</i> cv. Pendula.	3
红枫	<i>Acer palmatum</i> cv. Atropurpureum	4

2 结果与分析

2.1 不同前处理方法对样品氮同位素组成的影响

表 2 不同处理方法对氮同位素测试影响方差分析表

样品名称	处理	N	¹⁵ N/ ‰	标准差	t 值
海桐	不杀青	3	- 2.3	0.3	- 5.196 *
	杀青	3	- 2.0	0.4	
三叶草	不杀青	3	- 0.8	0.0	1.000
	杀青	3	- 0.8	0.1	
龙爪槐	不杀青	3	3.1	0.2	- 0.493
	杀青	3	3.3	0.5	
红枫	不杀青	3	- 2.9	0.1	- 0.571
	杀青	3	- 2.8	0.4	

注:t_{2,0.05}(双侧) = 4.303, * P < 0.05

由表 2 可以看出,不同植物氮同位素组成明显不同,红枫叶片的氮同位素值最低,达到 - 2.9 ‰,而龙爪槐的氮同位素值最高,达到 3.1 ‰。对比不同前处理方式对氮同位素组成的影响可以看出,除三叶草外,杀青使得氮同位素组成有偏正的趋势(0.1 ‰~ 0.3 ‰),但是这种偏差在仪器分析的偏差范围内,统计分析的结果表明,除海桐之外,其他样品杀青和不杀青对植物样品的氮同位素组成没有显著的影响。

2.2 不同前处理方法对植物氮含量的影响

表 3 不同处理方法对含量测试影响方差分析表

样品名称	处理	N	氮含量/ %	标准差	t 值
海桐	不杀青	3	2.0	0.3	0.250
	杀青	3	1.9	0.3	
三叶草	不杀青	3	3.7	0.1	0.500
	杀青	3	3.6	0.1	
龙爪槐	不杀青	3	4.0	0.1	- 0.333
	杀青	3	4.1	0.4	
红枫	不杀青	3	2.0	0.1	- 1.000
	杀青	3	2.1	0.1	

注:t 双尾临界值 4.303, P < 0.05

对不同植物叶片氮含量的研究表明,四种测试样品的氮含量 1.9 % ~ 4.0 %。对比不同处理方法对植物氮同位素组成的影响可以看出,不同处理方法对氮含量的影响不尽相同,其中海桐和三叶草杀青使得氮含量有些降低,但是对龙

爪槐和红枫来说,杀青反而使得氮含量升高,但是统计结果表明,无论杀青还是不杀青对氮含量的测定没有统计学上的差异(表 3)。

3 结论

样品的前处理是控制样品测定值准确与否的关键因素之一,而不同的样品处理方法也许会对结果产生不同的影响。本文通过不同的前处理方法表明,对于植物样品来说,杀青与否对植物氮同位素组成和氮含量的测定没有显著影响。有研究认为样品处理过程中,杀青可以抑制酶对某些成分的分解^[7],从而得到更为准确的结果,但该研究发现,在样品的氮素测定过程中,杀青与否不会对氮同位素组成和氮含量造成显著的影响,这主要可能是因为在植物氮素代谢过程中,为了防止铵态氮对植物细胞的毒害,铵态氮在植物的根系中被同化^[10],在植物叶片中除被叶片利用的氮素外,其他氮素以硝态氮的形式存在,这种氮素的存在形式对温度不是很敏感。总之,对于研究植物样品叶片氮素而言,杀青与否不会对氮同位素组成和氮含量造成明显的影响。

参考文献:

- [1] Vitousek P M, Aber J D, Howarth R W, et al. Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences[J]. *Ecological Applications*, 1997, 7(3): 737-750.
- [2] Capone D G, Popa R, Flood B, et al. Follow the Nitrogen [J]. *Science*, 2006, 312: 708-709.
- [3] Dawson T E, Mambelli S, Plamboeck A H, et al. Stable Isotope in Plant Ecology [J]. *Annu Rev Ecol Syst.*, 2002, 33: 507-559.
- [4] Robinson D. ¹⁵N as an integrator of nitrogen cycle [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2001, 16: 153-162.
- [5] Koba K, Hirobe M, Koyama L, et al. Natural ¹⁵N abundance of plants and soil N in a temperate coniferous forest [J]. *Ecosystems*, 2003, 6: 457-469.
- [6] Dijkstra P, Williamson C, Menyailo O, et al. Nitrogen stable isotope composition of leaves and roots of plants growing in a forest and a meadow [J]. *Isotopes Environ. Health Stud.*, 2003, 39: 29-39.
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [8] 中国生态系统研究网络科学委员会. 陆地生态系统生物监测规范 [S]. 2005.
- [9] 王政, 刘卫国, 文启彬. 土壤样品中氮同位素组成的元素分析仪: 同位素质谱方法 [J]. *质谱学报*, 2005, 26(2): 71-75.
- [10] Evans R D. Physiological mechanisms influencing plant nitrogen isotope composition [J]. *Trends in Plant Science*, 2001, 6: 121-126.