

本省現行植物分析法

張 淑 賢

一 引 言

本文中所列之分析方法多為農試所植物營養研究室慣用之大量樣本分析法，係參照該所李蘭帝技正之研究、IRRI 出版之植物樣本分析手冊及 M.L. Jackson 所著土壤化學分析等著作整理而成。本手冊僅注重操作過程之描述，欲詳知各分析方法之原理、干擾因子、精度範圍請參閱所列參考文獻。

二 氮之定量—微量擴散法

(一) 樣品之分解：

1. 器具：

刻有 50 ml 標線之分解瓶、橡皮塞、電爐、變壓器。

2. 試藥：

(1) 濃硫酸 (H_2SO_4)

(2) 分解催化劑：將磨細的 K_2SO_4 250 g， $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 50 g 及 Se 5 g 均勻混合。(即 50 : 10 : 1 w/w)

(3) 方法：

精稱樣品 200 mg 置入 50 ml 分解瓶中，加分解催化劑約 0.5 g 及濃硫酸 4 ml，在電爐上先以變壓器調節較低的溫度加熱至濃白煙消失(約 20 分鐘)，然後提高電爐溫度繼續加熱，則硫酸沸騰，分解液顏色漸轉變成青綠色(時間約需 1 小時)，繼續加熱 20 分後取下分解瓶。放冷後加純水約 10 ml 振盪再放冷，加純水至 50 ml 標線，蓋上橡皮塞混勻，即可供定氮。

(二) 測定：

1. 原理：

樣品分解液中之氮以 NH_4^+ 存在，當加入 NaOH 使其 pH 超過 10， NH_4^+ 即全部變成 $NH_3(g)$ 逸出，此 NH_3 再以 H_3BO_3 溶液吸收之， $NH_3 + H_3BO_3 \rightarrow NH_4^+ + H_2BO_3^-$ ，產生的 $H_2BO_3^-$ 再以標準酸標定，即可知氮量。

2. 器具：

(1) 培養皿：直徑約 9 公分，由大小相同的上蓋與底蓋組成，當蓋在一起時，接縫平整緊密。

(2) 小玻璃杯：直徑約 4 公分、圓底。

(3) 恆溫箱：調整至 35 °C。

(4) 10 ml 微量自動滴定管，最小刻度 0.01 ml。

3. 試藥：

(1) 10 N NaOH 溶液：將 4 Kg 工業用 NaOH 溶解於水並稀釋成 10 升。

(2) B P B 指示劑：溶解 1 g bromophenol blue (溴酚藍) 於純水中，可加約 3 ml 0.1 N NaOH 幫助其溶解，最後稀釋成 250 ml。

(3) 4% 硼酸—指示劑混合液：稱取 40 g H_3BO_3 溶解於 1000 ml 純水中，加 B P B 指示劑 30 ml 混勻。配好之硼酸指示劑混合液，其 pH 應在指示劑變色範圍內，即 pH 3.8 左右。

如呈青紫色，應以 0.1 N HCl 調整其顏色至紅帶綠色。

(4) Methyl orange 指示劑：將 0.1 g methyl orange (甲基橙) 溶解於 100 ml 純水中。

(5) 0.1 N 酸標準液 (HCl 或 H₂SO₄) 均可：

取 9 ml 濃鹽酸 (12 N) 或 3 ml 濃硫酸 (36 N)，加純水稀釋成 1000 ml。其酸度之標定法為正確稱取 0.530 g Na₂CO₃ (先在 270 ° - 300 °C 燒約 1 hr，置於乾燥器中放冷)，溶於純水中至 100 ml，此即 0.1 N Na₂CO₃ 溶液。取此 0.1 N Na₂CO₃ 溶液 10 ml 置於三角瓶中加兩滴 methyl orange 指示劑，用上述約 0.1 N 之酸液滴定至指示劑顏色變為橘紅色為止。然後將之加熱沸騰約 1 分鐘 (顏色又變回黃色)，放冷後以純水洗三角瓶內壁，再以酸液滴定至再呈橘紅色為止。記下最後之滴定數。酸的濃度 (Normality)

$$= \frac{0.1 \text{ N} \times 10 \text{ ml}}{\text{酸之滴定數 ml}}。$$

若要調製正確 0.1 N 酸液時，再以下列計算法求出應補加的純水量：即

$$\text{應加純水量} = \text{殘留酸液容量 ml} \times \frac{(10 \text{ ml} - \text{酸滴定數 ml})}{\text{酸之滴定數 ml}}$$

(6) 0.01 N 酸標準液：取 0.1 N 酸標準液 100 ml，加純水稀釋成 1000 ml 即可。

4. 方法：

取供試液 5 ml 置於培養皿中，另備小玻璃杯內裝約 4 ml 硼酸吸收液，置於培養皿中央。迅速加入約 5 ml 10 N NaOH 於培養皿內，迅速蓋上另一培養皿，接縫以玻璃膠帶密封，輕輕搖動，使供試液與 NaOH 充分混合後，移入保溫箱，36 小時後取出撕開膠帶，取出硼酸吸收液 (此時已變為藍紫色)，以 0.01 N 酸標準液滴定至原來紅帶綠的顏色。將近終點時，應一滴滴慢慢加入，以玻璃棒攪拌後，再加另一滴為宜。記下滴定數。

5. 計算：

$$\text{植物體中 N\%} = 0.01 \times 14 \text{ mg} \times \text{滴定數} \times \frac{50 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times \frac{100 \%}{200 \text{ mg}} = \text{滴定數} \times 0.7$$

6. 注意事項：滴定時，小杯皿底下應襯以白紙，並以日光燈照射，以利滴定終點之觀察。

三、磷之定量 — 鉬黃法

(一) 樣品之分解

1. 器具：

刻有 50 ml 標線之分解瓶、橡皮塞、電爐。

2. 試藥：

三酸混合液：即以 HNO₃ : HClO₄ : H₂SO₄ = 4 : 1 : 1 (v/v) 的比率混合。

3. 方法：

稱取樣品 200 mg 置入 50 ml 分解瓶中，加三酸混合液 3 ml，放置一夜，翌日在電爐上加熱分解至澄清 (約需 1 小時)，取下分解瓶放冷後加純水至標線混勻。此分解液可供磷、鉀、鈣、鎂測定之用。另取 3 ml 三酸混合液同法操作做為空白。

(二) 測定：

1. 原理：

在含有磷的酸性溶液中，鉬酸根及偏鉬酸根與磷酸根起反應，形成異性酸化合物（Heteropoly compound）而呈鉬黃顏色。當酸度在 0.2 N - 1.6 N 範圍內，鉬黃顏色的深度和磷濃度成正比，且不受酸度變化的干擾。

2. 器具：

光電比色計、10 ml 試管、1 ml 注射筒。

3. 試藥：

(1) HNO₃ - Vanadate-Molybdate 試劑：溶解 25 g 鉬酸鉍於 400 ml 純水中，此即 A 液。另溶解 1.25 g 偏鉬酸鉍（NH₄VO₃）於 300 ml 沸水中後放冷，倒入 250 ml 濃硝酸後再放冷，此即 B 液。將 B 液倒入 1000 ml 容量瓶中，再倒入 A 液，加純水稀釋成 1000 ml。

(2) 磷標準液：精確稱取 0.2195 g 40 °C 乾燥過之 KH₂PO₄，另加 25 ml 7N H₂SO₄，以純水稀釋成 1000 ml 即為 50 ppm P 母液。取此母液 0、5、10、15、20、25 ml 置於 50 ml 容量瓶中，以純水稀釋成 50 ml，即為 0~25 ppm P 標準液。

4. 方法：

準確吸取樣品分解液、空白、及磷標準液各 4 ml 置於 10 ml 試管中，以 1 ml 注射筒加入 1 ml 呈色劑，以手指按住管口將它倒轉以求迅速混合。放置 20 分鐘後測其 420 nm 吸光度。鉬黃顏色永遠穩定。

5. 計算：

植物樣本中 P % = 測得 ppm 數 × 0.025

6. 注意事項：

- (1) 吸取樣本及標準 P 液之吸管最好是同一支。
- (2) 測光管外壁，需以衛生紙拭淨，手指只能握住管口部分。
- (3) 以 0 ppm 磷酸（即純水）4 ml 加 1 ml 呈色劑調節透光度為 100。

四 鉀之定量—焰光分析法

(一) 原理：

將含有鉀之水溶液噴於火焰上時，可使鉀原子析出並發出其特性波長之焰光，在某一濃度範圍內，其焰光的強度與鉀濃度成正比。

(二) 器具：

火焰光度計（Flame photometer）

(三) 鉀之標準液：精確稱取 0.477 g KCl（105 °C 乾燥 2 hr）加純水溶解並稀釋至 500 ml，此即 500 ppm K 原液，取此原液 5 ml、10 ml 稀釋至 500 ml 即為 5 ppm 及 10 ppm K 標準液。

(四) 方法：

取樣品分解液及空白各 2 ml 稀釋成 50 ml（此液亦可供 Ca、Mg 之測定），使用火焰光度計測定此稀釋液之透光度，並與標準相比較決定其濃度。（先以純水調零，再以 10 ppm K 調整透光度為 100。

(五) 計算：

$$\text{植物樣本 K \%} = \text{測得 ppm 數} \times \frac{50 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 50 \times 10^{-6} \text{ g} \times \frac{100 \%}{0.2 \text{ g}} = \text{ppm 數} \times 0.625$$

(六) 注意事項：

- (1) 每測數個樣品，即需調零及 100。
- (2) 若樣品 K 含量較低，可取 5 ml 分解液稀釋成 50 ml 以提高其透光率讀數，降低誤差。

五 鈣之定量

(一) 原子吸光法 (Atomic absorption spectrophotometry)

1. 原理：將欲測元素之水溶液噴於氣體火焰中，則該元素即氣化並以原子狀態析出。此時該原子即可吸收其特性波長的光線，且在某一濃度範圍內，該原子濃度與吸光度成正比。

2. 器具：

原子吸光儀，具 5 ml 標線之試管。

3. 試藥：

(1) 10 % Lanthanum Acetate 溶液：稱取 10 g lanthanum acetate，加 90 ml 純水溶解之。

(2) 鈣標準液：精稱 2.497 g 乾燥過之 CaCO_3 置於 100 ml 燒杯中，加約 5 ml 6 N HCl 溶解之，再以純水稀釋成 1000 ml，此即 1000 ppm Ca 原液。取此原液 50 ml 稀釋成 500 ml，即為 100 ppm Ca 原液。再取 100 ppm Ca 原液 0 ~ 5 ml 稀釋成 100 ml 即成 0 ~ 5 ppm Ca 標準液。

4. 方法：

取樣品分解液及空白 2 ml 稀釋成 50 ml。將此樣本稀釋液及 0 ~ 5 ppm Ca 標準液倒入試管中至 5 ml 標線。各加一滴 10 % lanthanum acetate 溶液，測定其原子吸光光度，並與標準液之吸光度相較。

5. 計算：

$$\text{植物樣品 Ca \%} = \text{測得 ppm 數} \times \frac{50 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 50 \times 10^{-6} \text{ g} \times \frac{100 \%}{0.2 \text{ g}} = \text{測得 ppm 數} \times 0.625$$

6. 注意事項：

- (1) 每一原子吸光儀之直線範圍不同，需先以標準鈣液試驗濃度與吸光度之直線性範圍。
- (2) 調整樣品分解液之稀釋倍數，使其稀釋液濃度在直線範圍內。

(二) GEDTA 滴定法：

1. 器具：

10 ml 自動微量滴定管、磁性攪拌器、日光燈及黑板。

2. 試藥：

(1) 0.001 M GEDTA 液：稱取 0.380 克 GEDTA，溶解於水中，再稀釋成 1000 ml (若不溶解可加少量 4 N KOH)。此液需以標準鈣液標定其濃度，並調整其濃度至 0.001 M。(GEDTA 式量為 380)。

(2) 0.001 M Ca 標準液：精稱 1.000 g CaCO_3 ，以 5 ml 6 N HCl 溶解之並以純水稀釋成

1000 ml，即為 0.01 M Ca 標準液，取此鈣標準液 100 ml 稀釋成 1000 ml，即為 0.001 M 鈣標準液

(3) 4 N KOH：將 224 g KOH，加純水溶解成 1000 ml。

(4) Calcein 指示劑。

3. 方法：

取分解液 2 ml 置於 50 ml 燒杯中，加約 15 ml 純水，加 1.5 ml 4 N KOH 及少量 Calcein 指示劑，此時溶液呈現帶綠色螢光。加過量的 GEDTA 標準液至螢光消失變為淺橙色。然後以鈣標準液逆滴定。逆滴定时使用磁性攪拌器、燒杯後面襯以黑板，上掛日光燈，由側面對黑板觀察螢光。逐滴加入鈣標準液，當螢光出現時即為逆滴定的終點。兩標準液滴定數的差即為鈣之滴定數。

4. 計算：

$$\text{植物樣本 Ca \%} = 40 \text{ mg} \times 0.001 \times (\text{GEDTA 標準液滴定數} - \text{標準 Ca 液滴定數}) \times \frac{50 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times \frac{100 \%}{200 \text{ mg}} = \text{鈣滴定數} \times 0.5$$

5. 注意事項：

若樣品鈣含量很低，可取較多量分解液進行滴定，但 4 N KOH 液需按比例增量加入，以維持適當鹼性。

六 鎂之定量—原子吸光法

(一) 器具：原子吸光儀

(二) 試藥：

鎂標準液：精稱純鎂金屬 1.000 g，以少量 6 N HCl 溶解之，再以純水稀釋成 1000 ml，此即 1000 ppm Mg 原液。或將 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 於 300 °C 燒 7 小時以去掉結晶水使成無水 MgSO_4 ，置於乾燥器中放冷，精稱 1.2375 g 無水 MgSO_4 ，加純水溶解之並稀釋至 250 ml 亦為 1000 ppm Mg 原液。取此原液 50 ml 稀釋成 500 ml 即為 100 ppm Mg 原液。取此 100 ppm 原液 0 ~ 5 ml 以純水稀釋成 100 ml 即為 0 ~ 5 ppm Mg 標準液。

(三) 方法：

取樣品分解液 2 ml，以純水稀釋成 50 ml。測定此樣品稀釋液之原子吸光光度並與標準 Mg 液相較以測定其濃度。

(四) 計算：

$$\text{植物樣品 Mg \%} = \text{測得 ppm 數} \times \frac{50 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 50 \times 10^{-6} \text{ g} \times \frac{100 \%}{0.2 \text{ g}} = \text{測得 ppm 數} \times 0.625$$

七 鐵、錳、銅、鋅之測定（原子吸光法）

(一) 樣品之抽出：

1. 器具：

100 ml P.E. 塑膠瓶、漏斗、Whatman No. 1 濾紙。

2. 試藥：

1N HCl：將 1.5 升純的濃鹽酸加入 16.5 升純水中混勻即可。（此液以塑膠瓶保存）。

3. 方法：

稱取樣品 1 g，置於 100 ml P.E. 瓶中，加 25 ml 1N HCl，勿搖，使樣品全部浸於酸中，靜置 24 小時後過濾至乾淨之 P.E. 瓶中。此濾液可供直接測定 Fe、Mn、Cu、Zn。另取 25 ml 1N HCl 同上述法操作，做為空白。

(二) 樣品之測定：

1. 器具：原子吸光儀。

2. 試藥：

- (1) Fe 標準液：精稱 0.7023 g 乾燥之 $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (硫酸亞鐵銨)，溶解於 1N HCl 中並稀釋至 1000 ml 此即 100 ppm Fe 原液。取此原液 0~10 ml，以 1N HCl 稀釋成 100 ml 即為 0~10 ppm Fe 標準液。
- (2) Mn 標準液：精稱乾燥過之 KMnO_4 2.880 g，置於 1000 ml 燒杯中，加約 250 ml 純水溶解之，再加 20 ml 約 18 N 之 H_2SO_4 ，加熱使之沸騰，逐量加入固體 Na_2SO_3 ，直到高錳酸鉀顏色完全消失。繼續加熱以趕走 SO_2 蒸氣。取下溶液放冷後，倒入容量瓶中以純水稀釋成 1000 ml，即為 1000 ppm Mn 原液。取此原液 50 ml，以 1 N HCl 稀釋成 500 ml 即為 100 ppm Mn 原液。取此 100 ppm Mn 原液 0~5 ml，以 1N HCl 稀釋成 100 ml 即為 0~5 ppm Mn 標準液。
- (3) Cu 標準液：精稱純銅金屬 1.000 g 置於 100 ml 三角瓶中，加約 8 N HNO_3 50 ml，慢慢煮沸此液，直到 NO_2 紅棕色氣體不再冒出。以純水稀釋至 1000 ml，即為 1000 ppm Cu 原液。取此原液 50 ml，以 1N HCl 稀釋成 500 ml，即為 100 ppm Cu 原液。取此 100 ppm 原液 0~10 ml，以 1 N HCl 稀釋成 100 ml 即為 0~10 ppm Cu 標準液。
- (4) Zn 標準液：精稱純鋅金屬 (30 mesh) 1.000 g，置於 1000 ml 容量瓶中，加入 1N HCl 使之溶解再稀釋至 1000 ml 標線，即為 1000 ppm Zn 原液。取此原液 50 ml，以 1 N HCl 稀釋成 500 ml 即 100 ppm Zn 原液。取此 100 ppm Zn 原液 0~2 ml 稀釋成 100 ml 即為 0~2 ppm Zn 標準液。

3. 測定方法：

樣品抽出液及空白可直接測定各元素之原子吸光度並與其適當濃度之標準液相較。

4. 計算：

植物樣品中 Fe、Mn、Cu、Zn ppm = 測得 ppm \times 25

5. 注意事項：

漏斗需以 3 N HCl 浸洗過。

八 砷之定量—薑黃素呈色法

(一) 樣品之抽出：

1. 器具：

振盪器，100 ml P.E. 塑膠瓶、漏斗、Whatman No. 1 濾紙。

2. 試藥：

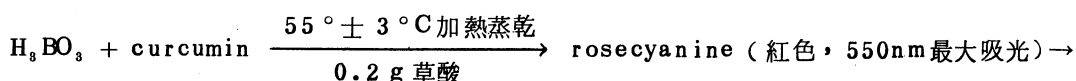
0.5 N HCl：將 210 ml 濃鹽酸加入純水中並稀釋成 5 升。

3. 方法：

稱取 0.5 g 植物樣品，置於 100 ml P.E. 瓶中，加入 25 ml 0.5 N HCl，振盪 2 小時後，過濾至乾淨 P.E. 瓶中。另取 25 ml 鹽酸，同上法操作，做為空白。

(二)測定方法：

1. 原理：



95% 酒精抽出 → 比色。

curcumin : 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxy phenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione。

2. 器具：光電比色計、水浴、離心機、100 ml P.E. 杯、50 ml P.E. 離心管。

3. 試藥：

(1) 95% 酒精。

(2) Curcumin-oxalic acid 試劑： 溶解 0.1 g curcumin (薑黃素) 及 12.5 g oxalic acid (草酸) 於 95% 酒精，並以酒精稀釋成 250 ml。若 curcumin 無法全部溶解，則試劑需過濾。此試劑需盛於塑膠瓶中，貯存於冰箱，其有效期間約一星期。

(3) 硼標準液： 精稱硼酸 0.5716 g (40°C 乾燥過者) 溶於純水中，並稀釋成 1000 ml，此即 100 ppm 硼原液。取此原液 50 ml 稀釋成 500 ml 即為 10 ppm B 原液。取 10 ppm 原液 0~40 ml 稀釋成 100 ml 即為 0~4.0 ppm B 標準液。標準液及原液均貯存於 P.E. 瓶中。

4. 方法：

取樣品抽出液、空白及 B 標準液 (包括 0 ppm) 各 1 ml 置於 100 ml P.E. 塑膠杯中，加 curcumin-oxalic acid 試藥 4 ml 混勻，置於 55°C ± 3°C 熱水浴中蒸發至乾後 15 分鐘 (約需 1 時半)，取下放冷。加 15 ml 酒精溶解，倒入 50 ml P.E. 離心管中，以 1500 rpm ~ 2000 rpm 離心 5 分，測其 540 nm 吸光 (0 - 2.0 ppm)，超過 2 ppm 者，測其 580 nm 吸光。

5. 計算：

植物樣品硼濃度 (ppm) = 測得 B ppm × 50

6. 注意事項：

(1) 漏斗需先以 3 N HCl 浸洗過。

(2) rosecyanine 以酒精抽出後，需於 2 小時內完成比色。

(3) 此法再現性較差，標準及樣品之呈色最好能做重複，取其平均值。

參 考 資 料

1. 李蘭帝 1966 大量植物樣本氮磷鉀之迅速測定法 農業研究 15(2): 1-5
2. 李蘭帝 1968 應用擴散法定量氮素試前檢查 土壤肥料通訊 No. 206
3. 李蘭帝 1968 硫酸之應用對 EDTA 法測定植物體鈣鎂之影響 農業研究 17(2): 40-48
4. Jackson M. L. 1962 "Soil chemical Analysis" 3rd Ed.
5. Yoshida S, D.A. Forno, J.H. Cook & K.A. Gomez 1972 "Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice" 2nd Ed. IRRI.