

《土壤硝态氮的测定 紫外分光光度法》

（征求意见稿）

Determination of Nitrate Nitrogen in Soil — Ultraviolet Spectrophotometric Method

编制说明

国家标准《土壤硝态氮的测定 紫外分光光度法》制定工作组

二〇一二年十二月

项目名称：土壤硝态氮的测定 紫外分光光度法

计划编号：20111825-T-326

项目负责单位：中国科学院南京土壤研究所

项目负责人：

技术委员会：全国土壤质量标准化技术委员会（SAC/TC 404）

目 次

1 工作简况.....	3
1.1 任务来源.....	3
1.2 起草单位和协作单位.....	3
1.3 主要工作过程.....	3
2 编制原则.....	5
3 土壤硝态氮测定方法概况.....	5
4 技术内容的确定方法和比对验证试验的分析.....	6
4.1 浸提方法的选择.....	6
4.2 波长的选择.....	6
4.3 校正因数的确定.....	6
4.4 线性关系、灵敏度、检出限和定量限的确定.....	9
4.5 紫外分光光度法与其它土壤硝态氮测定方法的比对验证.....	10
4.6 紫外分光光度法测定土壤硝态氮的精密度.....	12
4.7 紫外分光光度法测定土壤硝态氮的正确度.....	14
5 与标准草案的主要差异说明.....	15
6 标准实施的建议.....	15
参考文献.....	15

1 工作简况

1.1 任务来源

2011 年 12 月 30 日中国标准化管理委员会下达了《关于下达 2011 年第三批国家标准制修订计划的通知》(国标委综合[2011] 82 号), 其中《土壤硝态氮的快速测定 紫外分光光度法》获得批准成为 2011 年第三批国家标准制订计划项目, 计划编号 20111825-T-326, 主管部门为农业部, 技术归口单位为全国土壤质量标准化技术委员会, 由中国科学院南京土壤研究所承担起草工作。

2012 年 5 月 8 日, 按全国土壤质量标准化技术委员会下达的《全国土壤质量标准化技术委员会关于 2011 年土壤质量标准项目制定工作组的安排》(土壤质量标委会函字[2012] 4 号), 标准制定工作组开始征求意见稿和编制说明的编写工作。

1.2 起草单位和协作单位

本标准制定工作组成立于 2008 年 3 月, 由中国科学院南京土壤研究所 CERN 土壤分中心和鹰潭站、中国科学院西双版纳热带植物园生物地球化学实验室、中国科学院亚热带农业生态研究所桃源站、中国科学院东北地理与农业生态研究所海伦站、中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心栾城站、中国科学院植物研究所内蒙古草原站、中国科学院沈阳应用生态研究所所长白山站、江苏省标准化研究院组成。中国科学院南京土壤研究所作为起草单位负责调研和资料准备、比对验证试验的组织、标准的起草和申报、标准研讨和推广会议的组织工作; 其余站/实验室负责比对验证工作, 并对标准草案提出专业修改意见; 最后由江苏省标准化研究院对标准草案进行整体修改。

1.3 主要工作过程

1.3.1 调研和资料准备

2008 年 3 月获得中国科学院知识创新工程重要方向项目“长期生态监测数据质量控制与数据开发的方法和关键技术研究”之“土壤监测质量控制方法研究与

数据产品开发”课题（课题编号：KZCX2-YW-433-03）的经费支持，联系协作单位，成立方法研究和标准制定工作组。2008 年 3 月至 6 月，对 CERN 的 31 个陆地生态系统台站土壤硝态氮的测定方法和仪器进行调查，明确紫外分光光度法在全国范围应用的现状；查阅文献、收集国际、国家和行业标准。

1.3.2 开展分析方法研究

2008 年 7 月至 2008 年 12 月，进行供试样品的采集和制备工作。2009 年 1 月至 12 月，按 GB/T 6379.1-2004 的要求开展方法比对验证和准确度试验。2010 年 1 月至 5 月，对验证数据进行统计分析，形成方法研究报告，撰写标准草案。

1.3.3 申报国家标准

2010 年 6 月向全国土壤质量标准化技术委员会提交《土壤硝态氮的快速测定 紫外分光光度法》的推荐性国家标准项目建议书和标准草案。2011 年 12 月通过国家标准化管理委员会审批，获得立项，计划编号为 20111825-T-326。2012 年 12 月完成标准分析方法的征求意见稿及编制说明。

1.3.4 初步推广

2010 年 8 月在中国生态系统研究网络土壤监测质量管理培训会议上，面向 CERN 35 个陆地生态系统台站推广紫外分光光度法，同时收到了来自不同台站的实验室分析人员的建议。

1.3.5 重要工作组会议结论

2012 年 7 月在内蒙古奈曼旗召开标准编制启动会和工作组讨论会，对标准草案和标准编制说明内容进行讨论。主要结论有：

1) 将标准名称由“土壤硝态氮的快速测定 紫外分光光度法”修改为“土壤硝态氮的测定 紫外分光光度法”，因为紫外分光光度法虽然比经典的手工比色法快捷，但对于大批量样品来说，测定速度不如自动化的流动分析仪，其优势在于操作简便，对人员和仪器要求低。

2) 修改标准草案中“原理”部分，使之准确详细，不会给人造成歧异。

3) 校正因数 f 值精确到 3 位有效数字，重新计算全部的测定数据，修改编制说明中关于技术内容的确定方法部分和主要验证试验分析部分内容。

4) 删除标准草案中关于“样品”部分，因为目前已经有专门关于土壤样品采

集和制备的行业标准 NY/T 1121.1-2006，不需要再次规定。

5) 修改标准草案中关于“精密度和准确度”部分，使之符合 GB/T 6379 系列标准的要求。增加“质量保证和控制”部分，以保证测试数据的质量。

6) 增加关于其他干扰物质去除和 f 值实验测定方法的资料性附录。

2 编制原则

依据 GB/T2001.4-2001 《标准编写规则 第 4 部分：化学分析方法》、GB/T6379.1-2004 《测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第 1 部分：总则与定义》以及 GB/T6379.2-2004 《测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第 2 部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》进行编写，为便于使用，按 GB/T1.1-2000 的要求对本标准的格式和语言进行了修改。

3 土壤硝态氮测定方法概况

常见的土壤硝态氮测定方法有酚二磺酸比色法，镀铜镉还原-重氮化偶合比色法，还原蒸馏法，紫外分光光度法，以及使用仪器进行自动化分析的流动分析法、极谱法和色谱法等。其中酚二磺酸比色法和镀铜镉还原-重氮化偶合比色法是测定土壤硝态氮的经典方法，前者曾经是国家标准 GB/T 7850-1987 规定的方法，废止后变为现行的行业标准 LY/T 1230-1999；后者是国际标准 ISO 14256-1:2003 规定的方法。近些年一些经费充裕的试验室也开始使用基于镉柱还原或者硫酸肼还原的流动分析仪进行土壤硝态氮的测定。与上述方法相比，紫外分光光度法具有操作简捷、对仪器和人员要求低的优势，因此在科研和监测中也得到广泛的应用。但由于没有统一的标准，大多数实验室使用紫外分光光度法测定土壤硝态氮时，存在具体操作方法和参数选择不规范的问题。另外，该方法的准确度和与其它方法的可比性方面均有待于评估。

4 技术内容的确定方法和比对验证试验的分析

4.1 浸提方法的选择

主要采用 ISO/TS 14256-1: 2003(E)中规定的浸提方法,称样量为 40.00 g,浸提液为氯化钾溶液[$c(\text{KCl})=1 \text{ mol/L}$],土液比为 1:5,浸提温度为 $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$,浸提时间为 1 h。根据国内实验室仪器配置的习惯并参照 NY/T 1848-2010,将 ISO/TS 14256-1: 2003 中规定的 40 r/min 翻转式振荡器修改为 (220 ± 20) r/min 振荡频率的往复式振荡机。

4.2 波长的选择

根据李酉开(1983)的研究结果和水样中硝酸盐测定的行标 HJ/T 346-2007 和 SL 84-1994,选择 220 nm 波长测定土壤浸出液中硝态氮的吸光度,并测定土壤浸出液在 275 nm 波长处的吸光度以校正土壤浸出液中的有机物对硝态氮测定的干扰。

4.3 校正因数的确定

由于土壤浸出液中溶解的有机物在 220 nm 和 275 nm 处均有吸收,而硝酸根离子在 275 nm 处没有吸收。因此,在 275 nm 处作另一次测量,乘以一个校正因数(f 值)来抵消因有机物吸收 220 nm 波长而对硝态氮测定的干扰。在水样中硝酸盐测定的行标 HJ/T 346-2007 和 SL 84-1994 中,均设定 f 值为 2,这个 f 值实际上也为许多进行土壤硝态氮测定的实验室所使用。中国科学院南京土壤研究所 CERN 土壤分中心实验室在中国 8 个不同地区采集 9 种土壤样品(表 1),使用 f 值为 2 时测定土壤的硝态氮含量,并与经典的镀铜镉还原-重氮化偶合比色法和酚二磺酸比色法测定的结果进行比对。镀铜镉还原-重氮化偶合比色法按 ISO/TS 14256-1: 2003 的规定进行,酚二磺酸比色法按 LY/T 1230-1999 的规定进行。

表 1 供试土壤的类型和基本理化性质

编号	采样地点	土壤类型	土地利用	采样深度 (cm)	pH	有机质 (g/kg)	全氮 (g/kg)	质地
A	黑龙江海伦	黑土	旱地	0~20	6.83	45.44	2.16	黏壤
B	长白山	暗棕壤	温带针阔混交林	0~20 ¹⁾	5.83	130.6	6.44	黏壤
C	甘肃临泽	风沙土	旱地	0~20	7.99	13.10	0.7	砂土
D	青海海北	寒冻毡土	高寒草甸	0~20	7.66	76.04	4.13	砂壤
E	河南封丘	潮土	旱地	0~20	8.76	10.31	0.55	砂壤
F	江苏宜兴	菜园土	菜地	0~20	4.48	15.65	1.49	粉土
G	江苏宜兴	水稻土	水田	0~20	5.52	19.3	1.37	黏壤
H	四川盐亭	紫色土	旱地	0~20	8.03	9.78	0.73	黏土
I	江西鹰潭	红壤	旱地	0~20	5.86	11.91	0.75	黏壤

注：1) 为去掉表层枯枝落叶层和腐殖质层后的采样深度。

f 值取 2 时，除有机质含量较高的暗棕壤（B）和寒冻毡土（D）以外，其余土样的紫外分光光度法测定值均高于两种对照的经典方法，且大部分样品的测定值显著高于经典方法测定值（表 2）。因此，f 值采用 2 并不能完全抵消掉有机物对硝态氮在 220 nm 波长吸光度的干扰。

表 2 三种分析方法的土壤硝态氮含量测定值的比较（f=2）

土样编号	硝态氮含量 (mg/kg) ¹⁾		
	紫外分光光度法 (n=15)	镀铜镉还原-重氮化偶合比色法 (n=6)	酚二磺酸比色法 (n=6)
A	9.50±0.21 c	8.91±0.59 b	8.38±0.28 a
B	6.66±1.17 a	7.10±0.33 a	5.87±0.31 a
C	2.44±0.15 b	1.80±0.21 a	1.92±0.04 a
D	25.75±0.75 b	29.83±1.48 c	23.14±0.68 a
E	15.13±0.48 c	12.21±1.03 a	13.94±0.54 b
F	99.43±4.77 a	ND ²⁾	96.40±1.83 a
G	1.32±0.12 a	ND	1.21±0.08 a
H	7.28±0.77 ab	7.77±1.12 b	6.68±0.23 a
I	5.23±0.51 b	4.63±0.31 ab	4.56±0.32 a

注：1) 表中所列数值为平均值±标准差，同一行中相同字母的值表明没有显著差异（ $p=0.05$ ）；
2) ND 表示没有测定。

采用Norman等人（1981，1985）使用的方法去除浸提液中的硝态氮，测定处理后的溶液在 220 nm 和 275 nm 波长处吸光度，计算两者比值即为 f 值。具体的

测定步骤是：1) 去除亚硝态氮：向得到的土壤浸出液中加入 1 mL 氨基磺酸溶液[$\rho(\text{H}_3\text{NO}_3\text{S})=2\%$]，摇匀。2) 去除硝态氮：向 16×125 试管中依次加入 0.30 g 镍铝合金粉末 (Ni:Al=1:1)、5 mL 氨基磺酸溶液处理过的土壤浸出液和 0.5 mL 硫酸溶液[$\rho(\text{H}_2\text{SO}_4)=20\%$]，敞口放置于 55℃~60℃ 烘箱中，35 min 后取出过滤。吸取 1 mL 滤液用去离子水稀释至 10 mL。3) 按上述步骤处理等体积的氯化钾浸提液，作为空白试样。4) 测定样品和空白溶液在 220 nm 和 275 nm 波长处的吸光度，将样品溶液在 220 nm 和 275 nm 波长处的吸光度分别扣除相应的空白溶液的吸光度，计算两者比值即为该样品对应的 f 值。每一种土壤的 f 值取决于供试土壤有机质的性质，土壤有机质含量较高时浸提出的有机物浓度也较高，因此 f 值也较高。测定硝态氮时使用的 f 值是许多土壤测定结果的平均值，是一个经验系数，本试验 9 种土壤得到的 f 值平均为 2.23 (表 3)。

表 3 供试土壤浸出液的 f 值

土样 编号	A	B	C	D	E	F	G	H	I	平均值±标准差
f 值	2.42	2.27	1.92	3.56	2.38	1.50	1.83	2.03	2.19	2.23±0.58

使用测定的 f 值 2.23 重新计算紫外分光光度法数据，并与其他两种经典方法进行比较 (表 4)。除硝态氮含量较低的水稻土 (G) 以外，其余样品测定值与两种经典方法没有显著差异。因此，对于土壤硝态氮测定来说，f 值应提高到 2.23 才能更好地去除有机物的干扰。

表 4 三种分析方法的土壤硝态氮含量测定值的比较 (f=2.23)

土样编号	硝态氮含量 (mg/kg) ¹⁾		
	紫外分光光度法 (n=15)	镀铜镉还原-重氮化偶合比色法 (n=6)	酚二磺酸比色法 (n=6)
A	9.00±0.33 b	8.91±0.59 b	8.38±0.28 a
B	6.08±1.11 a	7.10±0.33 a	5.87±0.31 a
C	1.89±0.21 a	1.80±0.21 a	1.92±0.04 a
D	22.41±1.42 a	29.83±1.48 b	23.14±0.68 a
E	14.70±0.46 b	12.21±1.03 a	13.94±0.54 b
F	98.43±4.68 a	ND ²⁾	96.40±1.83 a
G	0.81±0.10 a	ND	1.21±0.08 b
H	6.95±0.69 ab	7.77±1.12 b	6.68±0.23 a
I	4.90±0.53 a	4.63±0.31 a	4.56±0.32 a
注: 1) 表中所列数值为平均值±标准差, 同一行中相同字母的值表明没有显著差异 ($p=0.05$); 2) ND 表示没有测定。			

4.4 线性关系、灵敏度、检出限和定量限的确定

对 4 个比对验证实验室的校准曲线进行统计, 所有校准曲线线性拟合的判定系数均高于 0.9990 (表 5)。根据校准曲线拟合函数计算出方法的灵敏度, 每单位吸光度的变化导致硝态氮含量的变化量为 10.77 mg/kg。根据 MacDougall 等人 (1980) 的文章和国际纯粹与应用化学联合会 (IUPAC) 的规定, 采用空白测量 (不少于 20 次) 平均值加 3 倍标准差作为方法的检出限, 采用空白测量平均值加 10 倍标准差作为方法的定量限。4 个实验室测得检出限的平均值为 0.46 mg/kg, 定量限的平均值为 1.12 mg/kg (表 5), 因此规定该方法的检出限为 0.5 mg/kg, 定量限为 1 mg/kg。

表 5 紫外分光光度法的校准曲线性能数据和检出限与定量限统计表

实验室 编号	实验室名称和地点	校准曲线 测定次数	空白试样 测定次数	判定系数 R^2	灵敏度 (mg/kg)	检出限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)
1	中国科学院南京土壤研究所 CERN 土壤分中心实验室, 江 苏南京	30	50	0.9996	10.35	0.24	0.81
2	中国科学院东北地理与农业生 态研究所海伦站实验室, 黑龙 江哈尔滨	29	36	0.9992	11.09	0.53	1.04
3	中国科学院亚热带农业生态研 究所桃源站实验室, 湖南长沙	25	81	0.9997	10.93	0.53	1.24
4	中国科学院西双版纳热带植物 园生物地球化学实验室, 云南 昆明	32	33	0.9996	10.71	0.55	1.38
平均				0.9995	10.77	0.46	1.12

4.5 紫外分光光度法与其它土壤硝态氮测定方法的比对验证

4.5.1 供试土壤样品信息及实验室分工

样品取自 CERN 的十个不同生态系统类型的野外台站（表 6），按上述内容确定的浸提方法、波长和校正因数，在六个实验室中进行紫外分光光度法与其他经典手工测定方法或仪器分析方法进行比对验证，具体的实验室分工表 7。在采用的对比方法中，镀铜镉还原-重氮化偶合比色法按 ISO/TS 14256-1: 2003(E)的规定进行，酚二磺酸比色法按 LY/T 1230-1999 的规定进行，FOSS FIAstar 5000 流动注射仪和 Seal AA3 流动分析仪测定按各自的仪器方法和 ISO/TS 14256-2: 2005(E)的规定进行。

表 6 供试土壤基本性质

样品 编号	采样地点	土地利用	土壤类型	土壤有机质 (g/kg)	采样深度 (cm)
J	新疆策勒站	绿洲农田	风沙土	4.82	0~20
K	甘肃临泽站	旱地	灌溉风沙土	7.70	0~20
L	河南封丘站	旱地	潮土	11.4	0~20
M	江西鹰潭站	撂荒地	红壤	8.21	0~20
N	陕西长武站	旱地	黑垆土	13.5	0~20
O	内蒙草原站	草地	栗钙土	19.2	5~20
P	辽宁沈阳站	旱地	潮棕壤	19.4	0~20
Q	湖南桃源站	水田	水稻土	24.9	5~20
R	江苏常熟站	水田	水稻土	37.3	0~20
S	北京森林站	森林	褐土	28.2	25~30

表 7 比对验证实验室的分工

实验室 编号	实验室名称和地点	使用不同方法测定样品的数量（平行批数×重复次数）				
		紫外分光 光度法	镀铜镉还 原-重氮化 偶合比色 法	酚二磺酸比 色法	FOSS FIAstar 5000 流动注射仪	Seal AA3 流动分析 仪
1	中国科学院南京土壤研究所 CERN 土壤分中心实验室，江 苏南京	10×5	——	10×5	——	10×5
2	中国科学院东北地理与农业生 态研究所海伦站实验室，黑龙 江哈尔滨	4×5	——	10×5	——	——
3	中国科学院亚热带农业生态研 究所桃源站实验室，湖南长沙	10×5	——	——	10×5	——
4	中国科学院西双版纳热带植物 园生物地球化学实验室，云南 昆明	11×5	——	10×5	——	11×5
5	中国科学院南京土壤研究所鹰 潭站实验室，江西鹰潭	10×5	5×5	——	——	10×5
6	中国科学院遗传与发育生物学 研究所农业资源研究中心栾城 站实验室，河北石家庄	5×5	5×5	——	——	——

4.5.2 紫外分光光度法与其它参比方法的比较

根据 GB/T 6379.2-2004 对全部数据进行离群值检验，用科克伦（Cochran）法检验多组平行方差中的离群值，利用格拉布斯（Grubbs）法检验多组平行测定均值中的离群值和一组平行中重复测定数据的离群值。

对每个实验室的测定数据进行非参检验，均服从正态分布。通过聚类分析可以发现紫外分光光度法与两种仪器分析方法的测定结果最为相近，其次是镀铜镉还原-重氮化偶合比色法可以与上述三种分析方法聚为一类，最后是酚二磺酸比色法的测定结果。使用单因素方差分析来进行不同方法测定值的均值比较，紫外分光光度法与 Seal AA3 流动分析仪测定的结果最为接近，仅对硝态氮含量较低的 S 样品测定值有显著差异（表 8）。酚二磺酸法的测定值普遍较其他方法偏低，对于含量较高的 L 和 P 样品，测定结果与紫外分光光度法和 Seal AA3 流动分析仪没有显著差异。将紫外分光光度法与其它参比方法进行相关分析，测定数据均为极显著相关（ $p<0.01$ ）。因此，紫外分光光度法与其他土壤硝态氮测定方法，尤其是仪器分析方法之间具有良好的可比性。

表 8 不同土壤硝态氮测定方法的均值比较

样品 编号	硝态氮含量 (mg/kg) ¹⁾				
	紫外分光光度法 (n=6)	镀铜镉还原-重氮 化偶合比色法 (n=2)	酚二磺酸比色法 (n=3)	FOSS FIAstar 5000 流动注射仪 (n=1)	Seal AA3 流动分 析仪 (n=3)
J	8.80±0.79 c	7.94±0.65 b	5.63±0.66 a	8.14±0.21 b	8.18±0.52 bc
K	4.87±0.52 c	4.00±0.75 b	2.89±0.64 a	4.35±0.15 b	4.41±0.35 bc
L	31.80±4.06 a	33.37±4.55 a	32.66±1.86 a	32.45±1.32 a	31.65±2.54 a
M	5.38±0.30 b	5.29±1.36 b	3.98±0.73 a	5.21±0.21 b	5.24±0.29 b
N	10.53±0.32 c	10.09±1.70 bc	7.47±1.24 a	9.68±0.24 b	10.08±0.48 bc
O	3.36±0.22 c	2.96±0.77 b	2.17±0.57 a	3.20±0.16 bc	3.27±0.26 bc
P	45.67±3.28 a	49.23±10.78 a	46.17±3.51 a	46.25±1.74 a	46.32±3.20 a
Q	0.025±0.212 a	0.17±0.36 a	0.18±0.06 a	0.006±0.011 a	0.097±0.189 a
R	11.99±0.93 b	11.81±3.32 b	8.82±1.56 a	12.02±0.57 b	11.85±1.25 b
S	0.41±0.16 a	0.62±0.25 b	0.41±0.12 a	0.52±0.04 ab	0.64±0.14 b
注：1) 表中所列数值为平均值±标准差，同一行中相同字母的值表明没有显著差异（ $p=0.05$ ）。					

表 9 紫外分光光度法与其他土壤硝态氮测定方法的相关分析（n=10）

		镀铜镉还原-重氮 化偶合比色法	酚二磺酸比色法	FOSS FIAstar 5000 流动注射仪	Seal AA3 流 动分析仪
紫外分光光度法	相关系数	0.996	0.999	1.000	1.000
	p	0.000	0.000	0.000	0.000

4.6 紫外分光光度法测定土壤硝态氮的精密密度

在 4.5 部分的比对试验中，土样 Q 和 S 分别低于方法的检出限和定量限，平行测定之间表现出较大的标准偏差，在方法的精密度和正确度（4.7）评估中去

除这两个样品，使用其余 8 个供试土样的测定数据计算。

使用各实验室测定 8 个供试土样的相对标准差来衡量精密度，并评估其重复性和再现性。6 个实验室平行测定的室间相对标准差平均为 3.83%，低于 LY/T 1230-1999 中规定的酚二磺酸比色法测定土壤硝态氮的允许相对偏差 5%（根据其规定的绝对偏差和对应的硝态氮含量计算）。

表 9 紫外分光光度法测定土壤硝态氮的精密度

实验 室号		供试土样							
		J	K	L	M	N	O	P	R
1	均值 (mg/kg)	8.94	5.04	34.01	5.40	10.74	3.49	47.68	13.14
	标准差 (mg/kg)	0.090	0.068	0.111	0.068	0.049	0.049	0.502	0.165
	相对标准差 (%)	1.01	1.34	0.33	1.26	0.46	1.42	1.05	1.25
2	均值 (mg/kg)	8.16	4.39	31.85	4.91	10.42	3.02	46.68	13.11
	标准差 (mg/kg)	0.100	0.054	0.285	0.100	0.133	0.074	0.353	0.106
	相对标准差 (%)	1.22	1.24	0.90	2.03	1.27	2.47	0.76	0.81
3	均值 (mg/kg)	10.15	5.75	34.14	5.48	10.67	3.44	47.13	12.36
	标准差 (mg/kg)	0.100	0.052	0.317	0.071	0.065	0.015	0.304	0.134
	相对标准差 (%)	0.98	0.90	0.93	1.29	0.60	0.43	0.65	1.08
4	均值 (mg/kg)	8.59	4.60	34.41	5.16	10.55	3.25	47.98	11.78
	标准差 (mg/kg)	0.074	0.053	0.195	0.047	0.080	0.040	0.368	0.114
	相对标准差 (%)	0.86	1.15	0.57	0.92	0.75	1.22	0.77	0.97
5	均值 (mg/kg)	8.04	4.51	23.78	5.58	10.59	3.60	39.65	10.70
	标准差 (mg/kg)	0.496	0.332	2.450	0.241	0.249	0.170	2.015	0.193
	相对标准差 (%)	6.17	7.36	10.30	4.32	2.35	4.72	5.08	1.80
6	均值 (mg/kg)	8.15	4.37	31.43	5.65	9.72	3.06	44.82	11.14
	标准差 (mg/kg)	0.058	0.042	0.517	0.532	0.135	0.124	0.303	0.057
	相对标准差 (%)	0.71	0.97	1.64	9.41	1.39	4.06	0.68	0.51
平均	均值 (mg/kg)	8.80	4.87	31.80	5.38	10.53	3.36	45.67	11.99
	标准差 (mg/kg)	0.365	0.226	1.655	0.226	0.198	0.132	1.386	0.431
	相对标准差 (%)	4.15	4.64	5.20	4.19	1.88	3.91	3.04	3.59

选择全部试验室一次平行测试的 5 次重复测定数据，5 次重复测定的均值与该实验室全部测定值的均值相近，实验室内的 5 次重复测定满足了重复性条件，不同实验室各自对相同样品进行的测试则满足了再现性条件，根据 GB/T 6379.2-2004 计算紫外分光光度法的重复性和再现性标准差（表 10）。回归分析表明紫外分光光度法测定土壤硝态氮的重复性标准差和再现性标准差都依赖于具体的土壤硝态氮水平，与之呈极显著的线性关系($p<0.01$)。根据 GB/T 6379.6-2009

得到针对两次重复测定的重复性限和两个实验室间测定的再现性限，即实验室内允许偏差和实验室间允许偏差（表 10）。

表 10 紫外分光光度法测定土壤硝态氮的重复性和再现性

样品编号	J	K	L	M	N	O	P	R
硝态氮含量 m (mg/kg)	8.71	4.77	31.62	5.73	10.43	3.32	45.63	12.03
重复性标准差 s_r (mg/kg)	0.193	0.227	0.320	0.236	0.076	0.094	1.145	0.119
s_r/m (%)	2.22	4.77	1.01	4.39	0.73	2.84	2.51	0.99
s_r 与 m 的函数关系	$s_r=0.0198*m$ ($R^2=0.8620$, $p=0.0003$)							
实验室内允许偏差 $ y_1-y_2 $ 与 m 的函数关系	$ y_1-y_2 =0.0554*m$							
再现性标准差 s_R (mg/kg)	0.390	0.307	1.781	0.246	0.179	0.127	1.720	0.465
s_R/m (%)	4.48	6.43	5.63	4.58	1.72	3.84	3.77	3.87
s_R 与 m 的函数关系	$s_R=0.0429*m$ ($R^2=0.9519$, $p<0.0001$)							
实验室间允许偏差 $ \bar{y}_1-\bar{y}_2 $ 与 m 的函数关系	$ \bar{y}_1-\bar{y}_2 =0.1201*m$							

4.7 紫外分光光度法测定土壤硝态氮的正确度

方法的正确度使用回收试验确定的回收率进行评估，视样品中硝态氮含量水平加入相当于供试样品 0.5-2 倍 的硝态氮标准溶液，使用与样品测定一样的方法进行浸提和测定，计算加入标准溶液的回收率（表 11）。紫外分光光度法对 8 种硝态氮含量高于其定量限的土壤样品测定的回收率均满足(100±10)%的范围，平均值为 95.2%，回收率与两种仪器测定方法相当，且优于手工分析方法。

表 11 四种土壤硝态氮测定方法的回收率（%）

测定方法	J	K	L	M	N	O	P	R	平均
紫外分光光度法 (n=5)	94.1	98.8	92.4	95.7	94.4	99.0	92.4	94.8	95.2
酚二磺酸比色法 (n=3)	86.1	78.0	83.1	80.2	76.6	87.8	75.8	84.5	81.5
FOSS FIAstar 5000 流 动注射仪 (n=1)	95.8	92.7	99.4	93.0	97.9	93.5	95.7	96.8	95.6
Seal AA3 流动分析 仪 (n=3)	99.6	99.2	95.0	94.8	101.6	105.8	95.9	101.2	99.1

5 与标准草案的主要差异说明

1) 标准名称变化

将标准名称由《土壤硝态氮的快速测定 紫外分光光度法》修改为《土壤硝态氮的测定 紫外分光光度法》，因为紫外分光光度法虽然比经典的手工比色法快捷，但对于大批量样品来说，测定速度不如自动化的流动分析仪，其优势在于操作简便，对人员和仪器要求低。

2) 标准章节增删

删除“样品”章节全部内容。删除“分析”中关于干扰物质去除的内容，修改后形成资料性附录 A。在最后增加“质量保证和控制”一个章节。增加资料性附录 B，提供 f 值的实验室测定方法。增加资料性附录 C，提供精密度确定的试验测试结果和统计数据。

6 标准实施的建议

本标准建议列为推荐性国家标准，以规范和统一紫外分光光度法用于测定土壤硝态氮时采用的操作步骤、校正因数 and 质控措施，使得不同实验室之间和不同测定方法之间获得的结果具有可比性。

参考文献

- [1] GB/T 20001.4-2001 标准编写规则 第 4 部分：化学分析方法
- [2] GB/T 6379.1-2004 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第 1 部分：总则与定义
- [3] GB/T 6379.2-2004 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第 2 部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法
- [4] GB/T 6379.6-2009 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第 6 部分：准确度值的实际应用
- [5] ISO/TS 14256-1:2003 Soil quality – Determination of nitrate, nitrite, and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution – Part 1: Manual method
- [6] ISO/TS 14256-2:2005 Soil quality – Determination of nitrate, nitrite, and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution – Part 2: Automated method

with segmented flow analysis

- [7] NY/T 1848-2010 中性、石灰性土壤铵态氮、有效磷、速效钾的测定联合浸提-比色法
- [8] 李酉开. 紫外分光光度法测定硝酸盐. 土壤学进展. 1983 (6): 44-56
- [9] HJ/T 346-2007 水质 硝酸盐氮的测定 紫外分光光度法
- [10] SL 84-1994 硝酸盐氮的测定 (紫外分光光度法)
- [11] LY/T 1230-1999 森林土壤硝态氮的测定
- [12] Norman RJ, Stucki JW. The determination of nitrate and nitrite in soil extracts by ultraviolet spectrophotometry. Soil Sci. Soc. Am. J. 1981, 45: 347-353
- [13] Norman RJ, Edberg JC, Stucki JW. Determination of nitrate in soil extracts by dual-wavelength ultraviolet spectrophotometry. Soil Sci. Soc. Am. J. 1985, 49: 1182-1185
- [14] MacDougall D, Crummett WB. Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. Analytical Chemistry. 1980, 52: 2242-2249
- [15] Inczédy J, Lengyel T, Ure AM. Compendium of analytical nomenclature (3rd Edition). Blackwell Science. 1998
- [16] 宋歌, 孙波, 教剑英. 测定土壤硝态氮的紫外分光光度法与其他方法的比较. 土壤学报. 2007, 44(2): 288-293