

附件 17

《土壤质量 全氮的测定 凯氏法》编制说明
(征求意见稿)

《土壤质量 全氮的测定 凯氏法》标准编制组

二〇一三年九月

项目名称：土壤质量 全氮的测定 凯氏法

项目统一编号：1010

项目承担单位：天津市环境监测中心

编制组主要成员：魏恩棋 王琳 张玉惠 赵莉 王岚云 杨虹 郭晶晶

刘金冠 李颖 丁冬梅

标准所技术管理负责人：戴天有、王宗爽

标准处项目管理负责人：雷晶、李月英

目 次

1 项目背景	1
1.1 任务来源.....	1
1.2 工作过程.....	1
2 标准制修订的必要性分析	1
2.1 标准被测对象（污染物项目）的环境危害.....	1
2.2 相关环保标准和环保工作的需要.....	2
2.3 分析方法的最新进展.....	2
3 国内外相关分析方法研究	2
3.1 凯氏蒸馏法.....	2
3.2 元素分析法.....	3
4 标准制修订的基本原则和技术路线	3
4.1 标准制修订的基本原则.....	3
4.2 标准制修订的技术路线.....	4
5 方法研究报告	5
5.1 方法研究的目标.....	5
5.2 方法原理.....	5
5.3 试剂和材料.....	5
5.4 仪器和设备.....	6
5.5 样品.....	7
5.6 分析步骤.....	7
5.7 结果计算与表示.....	10
5.8 质量保证和质量控制.....	11
6 方法验证	13
6.1 方法验证方案.....	13
6.2 方法验证过程.....	14
6.3 方法验证结论.....	15
7 与开题报告的差异说明	15
8 参考文献	15
附录一 方法验证报告	17

《土壤质量 全氮的测定 凯氏法》编制说明

1 项目背景

1.1 任务来源

2008年2月原国家环境保护总局办公厅公布了《关于开展2008年度国家环境保护标准制修订项目工作的通知》(环办函[2008]44号),科技标准司向天津市环境监测中心下达了编制《土壤质量 全氮的测定 凯氏法》的项目计划书,项目统一编号为:1010,由天津市环境监测中心承担《土壤质量 全氮的测定 凯氏法》(GB/T7173-1987)的制订工作。

1.2 工作过程

2008年2月任务下达后,天津市环境监测中心组成了标准编制组。标准编制组根据标准制修订项目计划的要求,收集国内外关于土壤全氮测定资料,分析目前土壤全氮测定的研究现状、相关分析方法及其存在的问题。在此基础上制定了具体的技术路线和制订原则,并编制开题报告,组织专家进行了开题论证。2008年3月~2009年1月,对方法进行条件试验,确定分析方法的最佳分析条件及质量保证和质量控制方法,并开始进行方法验证。

2009年1月~2009年10月,编写《土壤质量 全氮的测定 凯氏法和元素分析法》标准征求意见稿。2009年12月,经专家讨论决定将该方法分成两个方法:《土壤质量 全氮的测定-凯氏法》和《土壤质量 全氮的测定-元素分析法》,由于本实验室没有元素分析仪,因此后者的制订工作由国家测试中心完成。

2010年2月~2011年1月根据《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ168-2010)的要求,组织6家有资质的实验室进行方法的验证,并将验证结果进行汇总整理。根据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ168-2010)的要求,编写方法标准征求意见稿及编制说明以及验证报告。

2012年10月~2013年8月,请专家对征求意见稿及其编制说明进行了函审,并按照专家意见对征求意见稿及其编制说明进行了修改。

2 标准制修订的必要性分析

2.1 标准被测对象(污染物项目)的环境危害

氮作为一种主要的生命元素和自然组分,对生命体乃至整个生态系统起着重要作用,是农业、生物和环境等领域分析研究的重要化学元素之一^[1]。土壤中氮素的总贮量及其存在状态,与作物的产量在某种条件下有一定的正相关^[2]。土壤中的全氮含量反映了土壤中氮循环的状况,是衡量土壤肥力、评价土壤资源的一项重要指标^[3]。从土壤或沉积物中流失的氮元素(主要以NO₃形式存在)是引发江河湖泊乃至海洋等水体富营养化的最关键因素^[4]。由此可见,氮循环是环境监测研究领域中最重要课题之一,氮含量的测定也是常

规的测试项目之一。

2.2 相关环保标准和环保工作的需要

土壤是构成生态系统的基本环境要素，是人类赖以生存的物质基础，也是经济社会发展不可或缺的重要资源。我国土壤污染的总体形势相当严峻，已对生态环境、食品安全、人民身体健康和农业可持续发展构成严重威胁。然而，目前我国没有“土壤污染防治”相关法律制度，土壤类的环保质量标准没有涉及到全氮指标，土壤普查工作中全氮数据也不作为评价内容。目前没有“土壤全氮测定——元素分析法”和“土壤全氮测定——凯氏法”的国家标准方法。2011年3月十一届全国人大四次会议期间，徐景龙、赵林中等62位全国人大代表提出2件议案，建议制定土壤污染防治法。为贯彻《中华人民共和国环境保护法》^[7]，为支持即将出台的土壤污染防治法，为保护环境，保障人体健康，需要重新制订土壤全氮测定法。

2.3 分析方法的最新进展

测定土壤氮含量的方法主要有干烧法和湿烧法，沿用至今已有百余年的历史。湿烧法消煮液中的铵态氮可用蒸馏法、扩散法、比色法、流动注射法、光谱法和电极法等测定^{[5]-[6]}。干烧法使用专门的仪器将还原的氮气用气相色谱、差分热导和吸附-脱附等方法测定。实现上述两种途径的常用方法是凯氏蒸馏法和元素分析仪法。目前，在我国以凯氏蒸馏法为主要测定方法，这种方法操作较复杂，但是对实验仪器设备要求简单，价格较低。在欧美等发达国家广泛采用元素分析法取代凯氏法。这种方法是使样品在高温纯氧环境中燃烧后，分离出氮气，并被热导检测器检测^[8]。其具体操作简单，安全系数高，工作环境无污染，省时省工，精密度好，适用于大批样品的测定；但是，所需仪器昂贵，需要技术人员调试和维护，其分析范围较小，取样量极低会致使测量值变异性相对加大^[9]。

3 国内外相关分析方法研究

3.1 凯氏蒸馏法

凯氏蒸馏法（简称凯氏法）属于湿烧法，是全氮分析的一种经典方法。1883年，丹麦人凯道尔（J.Kjeldahl）为研究蛋白质的变化首次创立了该蒸馏分析方法，经推广和改进用来测定全氮含量^[10]。此法是将样品在加速剂的参与下，用浓硫酸消煮，使其中各种含氮有机物经过复杂的高温分解反应转化为氨，并与硫酸结合产生硫酸铵。消煮液碱化后蒸馏出的氨用硼酸吸收，以标准酸溶液滴定至终点，根据所用的标准酸溶液的体积计算样品的全氮含量。

朱江等^[11,12]利用金属氧化物的纳米粉末在适当的条件下可催化断裂C-C、C-H、C-O等有机价键的特性，将纳米ZnO、TiO₂代替传统混合催化剂K₂SO₄:CuSO₄:Se用于全氮测定，不仅避免了在消煮过程中有剧毒物质H₂Se产生，而且取得了良好的测定结果。他发现纳米TiO₂粉末的催化效果十分明显^[11]；纳米ZnO粉末对土壤中有机质的分解更完全、彻底，而且反应速度快，消煮时间短，不会造成因消煮时间过长而使氮的损失的现象，尤其适用于有机质含量高的土壤的全氮测定^[12]。

宁夏农林科技1997年第三期《土壤全氮测定中消化方法对分析结果的影响》中，将常用的改良消化法和经典的凯氏消化法进行了比较^[13]。其中包括： $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 分步消化法、 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 一次消化法、 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 烘箱保温一次消化法、 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-HClO}_4$ 法和 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消化法，文中对各个方法的优点、缺点和适用的土壤类型进行了讨论。土壤理化分析^[14]中写到全氮消化的氧化剂较多，一般有高氯酸、高锰酸钾、过氧化氢、重铬酸钾。

总之，目前文献方法中均没有规定检出限和测定范围，并且存在以下几个方面的不足：

- (1) 现行国标方法把全氮的测定分成两种：一种是包括硝酸盐氮和亚硝酸盐氮；一种是不包括硝酸盐氮和亚硝酸盐氮。这种分类不合理，全氮测定顾名思义就是包括所有的氮的含量。
- (2) 操作步骤繁琐，消化时间长。
- (3) 所用的混合催化剂 $\text{K}_2\text{SO}_4\text{:CuSO}_4\text{:Se}$ ，在消煮过程中有剧毒物质 H_2Se 产生，对环境造成污染并给操作者带来一定的安全隐患。
- (4) 消化所用的酸只有硫酸，这对于有机质含量高难于消化的土壤样品根本不能消化完全。

3.2 元素分析法

元素分析法(简称分析仪法)用元素分析仪测定全氮含量，其分析原理属于干烧法。该法是将样品在燃烧管中高温燃烧，使被测氮元素的化合物转化为 NO_x ，然后经自然铜的还原和杂质(如卤素)去除过程， NO_x 被转化为 N_2 ，最后经检测器的检测，计算出样品中N元素的质量百分含量^[15]。

江伟等^[9]用凯氏蒸馏法和元素分析仪法测定沉积物中全氮含量，并比较了两种方法的异同及其意义。范志影等^[8]用凯氏法和杜马斯燃烧法（其原理与元素分析法相同）测定植物样品中的全氮，作者对比了两种方法的特点，用两种方法分别检测24种植物样品的氮含量，并对两种方法的测得结果进行了比较，发现杜马斯燃烧法测定的全氮总是略高于凯氏定氮法的结果，其原因是凯氏法不便检测硝态氮，所以认为杜马斯定氮法更适用于植物样品全氮的测定。

综上所述，元素分析法所需仪器昂贵，需要技术人员调试和维护，其分析范围较小，取样量极低会致使测量值变异性相对加大^[11]。因此目前在我国以凯氏蒸馏法为主要测定方法，这种方法虽然操作较复杂，但是对实验仪器设备要求简单，价格较低。但在测定时要取得良好的精密度和准确度，需对传统方法进行以下两方面的改进：一是如何选用有效的催化剂；二是如何保证消化完全。

4 标准制修订的基本原则和技术路线

4.1 标准制修订的基本原则

本标准编制时参考 ISO 的方法技术，又考虑国内现有的监测机构的能力和实际情况，确保方法标准的科学性、先进性、普遍适用性和可操作性，易于推广。保证所编制的方法

检出限和测定范围能满足相关环保标准核环保工作的要求，方法能满足各项方法特性的要求，经过验证确保方法的准确可靠。

4.2 标准制修订的技术路线

根据标准制修订的基本原则，通过组织专家讨论，提出了以下两种分析测试技术方案：

- (1) 照搬 ISO11261，直接将其转化为标准方法，只对方法的适用性以及检出限、准确度、精密度等特性指标进行验证。
- (2) 参考 ISO11261 以及国内文献提到的方法，结合国内现有的监测机构的能力水平，选择最佳实验条件。通过对不同土壤类型的测试，扩大方法的适用范围。通过标样测定、加标回收实验、精密度实验等验证方法的准确度和精密度。在充分了解目前国内测定土壤全氮的仪器设备的情况的基础上，通过各种仪器设备的比对实验，证明标准的普遍适用性。

方案一简单省时，但是脱离我国的现有监测能力水平。在研究初始阶段，采用该方案对标样进行测定，由于 ISO11261 方法中要求的试剂、实验容器、实验设备等与国内市售的有较大差异，造成实验失败，准确度和精密度均不满足要求。所以，照搬 ISO11261 不适合我国国情。方案二比较费时，但是按照该方案制订后的标准不仅适用范围广泛，而且符合我国现有监测能力水平。因此，选择方案二作为最终分析测试技术方案，技术路线图见图 1。

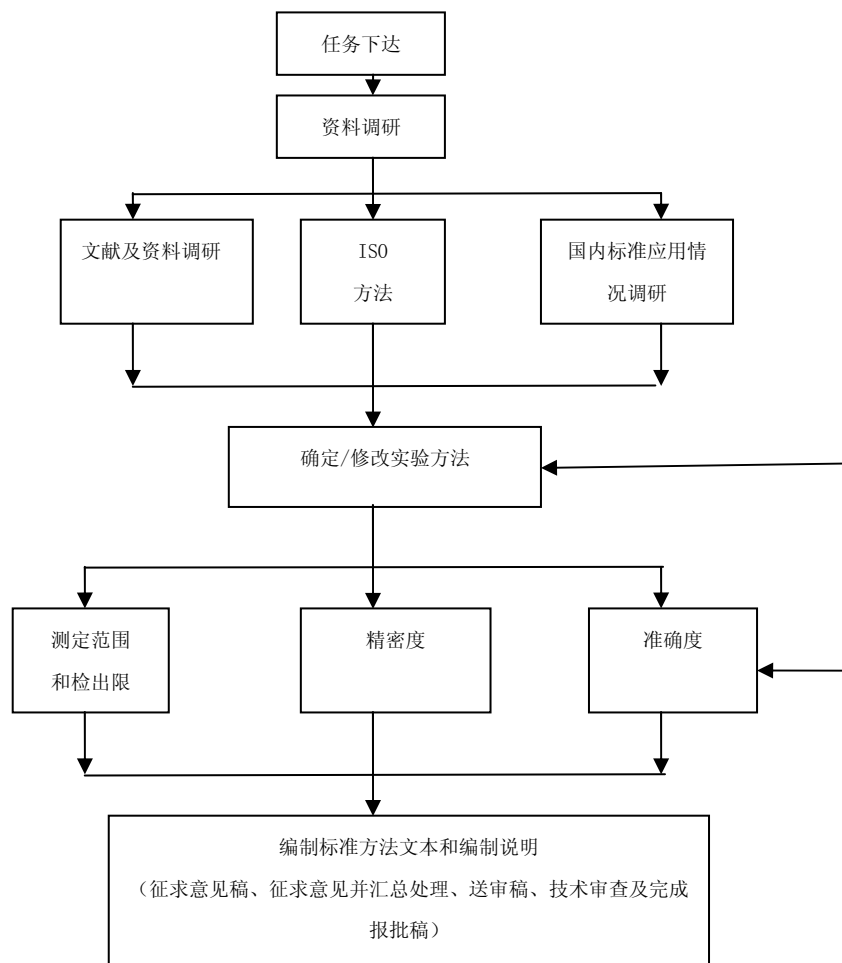


图 1 技术路线图

5 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

本标准方法适用于各种类型土壤样品全氮含量的测定，包括有机氮化合物蛋白质、氨基酸、核酸、尿素等，硝态氮、亚硝态氮以及氨氮，还包括部分联氮、偶氮和叠氮等含氮化合物。

通过制订标准，明确方法检出限、测定范围、精密度、准确度等特性指标，确定适用范围，规范操作步骤，去除实验过程中的安全隐患。

制订后的标准，方法的最低检出限为：当取样量为0.5g时，为14 mg/kg；方法测定下限为：56 mg/kg；实验室内相对标准偏差小于15%，实验室间相对标准偏差小于20%；加标回收率为85%~115%，标准样品测定相对误差小于5%；方法适用于各种土壤类型。

5.2 方法原理

利用浓硫酸的氧化作用将土样中的亚硝态氮氧化为硝态氮后，用硫代硫酸钠使全部的硝态氮还原为铵态氮。然后在混合催化剂的参与下，用浓硫酸消煮，各种含氮有机化合物经过复杂的高温分解反应转化为硫酸铵，有机质被氧化成二氧化碳，样品中的无机铵态氮也转化为硫酸铵。再用浓碱蒸馏使硫酸铵变为氨蒸出后被硼酸吸收，以标准盐酸滴定，流程图见图2。本方法测定的全氮包括有机氮化合物蛋白质、氨基酸、核酸、尿素等，硝态氮、亚硝态氮以及氨氮，还包括部分联氮、偶氮和叠氮等含氮化合物。



图2 凯氏法实验流程图

5.3 试剂和材料

本标准所用试剂除非另有说明，分析时均使用符合国家标准和分析纯化学试剂和蒸馏水。

- (1) 浓硫酸： $\rho(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1.84 \text{ g/mL}$ 。
- (2) 浓盐酸： $\rho(\text{HCl}) = 1.19 \text{ g/mL}$ 。
- (3) 高氯酸： $\rho(\text{HClO}_4) = 1.768 \text{ g/mL}$ 。
- (4) 无水碳酸钠：基准试剂。
- (5) 混合催化粉末：200g 硫酸钾、6g 的五水合硫酸铜和 6g 二氧化钛于玻璃研钵中充分混均，研细。
- (6) 五水合硫代硫酸钠粉末：将五水合硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)研磨后过 0.25mm (60目)筛。

(7) 氢氧化钠溶液: $c(\text{NaOH})=10\text{mol/L}$

称取 400g 氢氧化钠溶解于 500mL 水中, 冷却至室温后稀释至 1000mL。

(8) 硼酸溶液: $c(\text{H}_3\text{BO}_3)=20\text{g/L}$

称取 20g 硼酸溶解于水中, 稀释至 1000mL。

(9) 碳酸钠标准溶液: $c(1/2 \text{Na}_2\text{CO}_3)=0.0500\text{mol/L}$

称取 2.6498g (于 250℃ 烘干 4h) 的无水碳酸钠, 溶于少量水中, 移入 1000mL 容量瓶中, 用水稀释至标线, 摇匀。贮于聚乙烯瓶中, 保存时间不要超过一周。

(10) 盐酸标准贮备溶液: $c(\text{H}^+)\approx 0.0500\text{mol/L}$

用分度吸管吸取 4.20mL 浓盐酸, 并用水稀释至 1000mL, 此溶液浓度 $\approx 0.0500\text{mol/L}$ 。其准确浓度按下法标定:

用无分度吸管吸取 25.00mL 碳酸钠标准溶液于 250mL 锥形瓶中, 加水稀释至约 100mL, 加入 3 滴甲基橙指示液, 用盐酸标准溶液滴定至由桔黄色刚变成桔红色, 记录盐酸标准溶液用量。按下式计算其准确浓度:

$$C = \frac{25.00 \times 0.0500}{V}$$

式中: C —— 盐酸标准溶液浓度 (mol/L);

V —— 盐酸标准溶液用量 (mL)。

(11) 盐酸标准溶液: $c(\text{H}^+)\approx 0.0100\text{mol/L}$

吸取 50.00ml 盐酸标准贮备溶液于 250mL 容量瓶中, 用水稀释至标线。

(12) 混合指示剂: 将 0.1g 的溴甲酚绿和 0.02g 的甲基红溶解于 100mL 的无水乙醇中。

5.4 仪器和设备

(1) 粉碎机。

(2) 玛瑙研钵。

(3) 分样筛: 孔径 2mm (10 目); 0.25mm (60 目)。

(4) 分析天平: 感量为 0.0001g。

(5) 长颈烧瓶或试管 (适合放在消解器上): 容积 50ml 或 100ml。

(6) 带孔专用消解器或 300W 变温电热板。

(7) 凯氏氮蒸馏装置 (见图 1)。

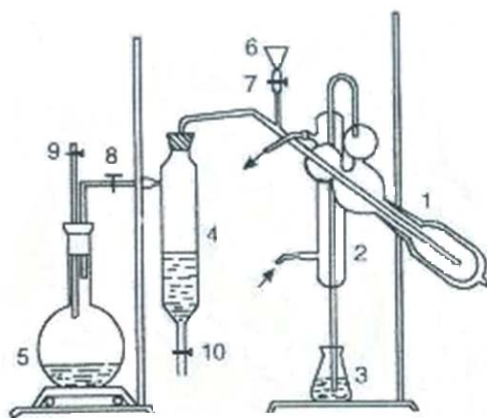


图1 凯氏氮蒸馏装置

1—蒸馏瓶；2—冷凝器；3—承受瓶；4—水分筒；
5—蒸汽发生器；6—加碱小漏斗；7、8、9—螺旋夹；10—开关

5.5 样品

(1) 样品采集

土壤样品采集，执行 HJ/T166-2004 “6.样品采集” 的规定。

(2) 样品制备

土壤样品制备，执行 HJ/T166-2004 “8.样品制备” 的规定。

(3) 样品保存

土壤样品保存，执行 HJ/T166-2004 “9.样品保存” 的规定。

5.6 分析步骤

5.6.1 还原剂的选择

本次制订参照 ISO11261 使用五水合硫代硫酸钠粉末，操作方便快捷，效果较好。为验证五水合硫代硫酸钠粉末的还原效果，可以通过无机氮的加标回收实验来证明。一般土壤中的无机氮含量小于 10%，因此根据土壤的全氮含量确定加标量（加标量为无机氮含量的 0.5 至 2 倍），对 9 种不同的土样加入硝酸钾标准溶液（含氮 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）进行加标回收实验，结果见表 1。

表 1 无机氮的加标回收实验结果

土样名称	本底氮量 (μg)	加标量 (μg)	测定量 (μg)	回收量 (μg)	回收率 (%)
粘质潮土	489.5	50.0	535.0	45.5	91.0
重壤质潮土	251.5	20.0	270.5	19.0	95.0
砂土果园	216.0	20.0	234.0	18.0	90.0
滨海盐土	133.5	10.0	143.5	10.0	100.0
粗骨性褐土	838.0	50.0	885.0	46.5	93.0
淋溶褐土	368.0	20.0	387.0	19.0	95.0
沙质潮土	168.0	20.0	188.0	20.0	100.0
石灰性褐土	430.5	50.0	478.5	48.0	96.0
农田土	660.0	50.0	707.0	47.0	94.0

由表 1 得到，使用五水合硫代硫酸钠粉末作为还原剂，无机氮加标回收率为 91.0%~100.0%。该方法操作方便快捷，效果较好，所以认为可以选用五水合硫代硫酸钠粉末作为

还原剂。

5.6.2 氧化剂的选择

ISO11261 使用的是水杨酸—硫酸消解，在实验过程中发现空白值较大，并且水杨酸—硫酸不容易保存。如果只使用硫酸，虽然简单方便，但是如果遇到难于消解的土壤样品时，不但费时而且不完全。采用不同的氧化剂对 9 种不同土壤类型（粘质潮土、重壤质潮土、砂土果园、滨海盐土、粗骨性褐土、淋溶褐土、沙质潮土、石灰性褐和农田土）进行测定，以只使用浓 H_2SO_4 方法所得结果为 100%，比较各种氧化剂的测定结果，选出最优的氧化剂。

(1) 浓 H_2SO_4 方法

称样 0.5000g 置于 50ml 凯氏烧瓶中，加水约 2ml，使土壤完全湿润，再加 5ml 浓 H_2SO_4 。摇匀后盖上漏斗，放在电炉上消化至灰白色。消化后的样品溶液，进行蒸馏，用盐酸滴定氮含量。

(2) $H_2SO_4+HClO_4$ 法

称样 0.5000g 置于 50ml 凯氏烧瓶中，加水少许使完全湿润，再加 5ml 浓 H_2SO_4 ，瓶口加盖漏斗，在通风柜中加热至冒烟，消化 5min，稍冷加 70%高氯酸 ($HClO_4$) 1 滴，继续消化 5min，如溶液仍有颜色，再加高氯酸反复消化数次，至溶液呈纯白色或浅黄色为止。将消化后的样品溶液进行蒸馏，用盐酸滴定氮含量。

(3) $H_2SO_4+H_2O_2$ 消化法

称样 0.5000g 置于 50ml 凯氏烧瓶中，加水少许使完全湿润，加 5ml 浓 H_2SO_4 ，瓶口加盖漏斗，在通风柜中加热至冒烟，消化 5min，稍冷加 30%双氧水 (H_2O_2) 2 滴，继续消化 5min，如溶液仍有颜色，再加双氧水反复消化数次，至溶液呈纯白色为止。消化后的样品溶液，进行蒸馏，用盐酸滴定氮含量。

以只使用浓 H_2SO_4 方法所得结果为 100%，比较采用不同消化方法时，不同土壤全氮的测定结果，选出最优的消解方式。结果见表 2。

表 2 氧化剂的选择实验结果

土样名称	浓 H_2SO_4 法			$H_2SO_4-HClO_4$ 法			$H_2SO_4-H_2O_2$ 法		
	含氮量 (mg/kg)	产率 (%)	时间 (h)	含氮量 (mg/kg)	产率 (%)	时间 (h)	含氮量 (mg/kg)	产率 (%)	时间 (h)
粘质潮土	902	100	4.5	938	104.0	2	743	82.4	2
重壤质潮土	511	100	4	460	90.0	2	425	83.2	2
砂土果园	435	100	4	391	89.9	12	364	83.7	12
滨海盐土	266	100	2	253	95.1	1.5	236	88.7	1.5
粗骨性褐土	1700	100	4.5	1464	86.1	2	1310	77.1	2
淋溶褐土	743	100	4	660	88.8	2	594	79.9	2
沙质潮土	333	100	2	313	94.0	2	269	80.8	2
石灰性褐土	849	100	4	746	87.9	2	688	81.0	2
农田土	1299	100	4.5	1138	87.6	2	1029	79.2	2
平均值	—	100	4	—	91.5	2	—	81.8	2

由表 2 得到， $H_2SO_4-H_2O_2$ 法和 $H_2SO_4-HClO_4$ 法消解时间短，但是氮有损失， $H_2SO_4-H_2O_2$ 法氮的损失较大， $H_2SO_4-HClO_4$ 法测定结果偏低，但偏差不大。而对于难消解或有机物含量高的土样，加入高氯酸使得消解更完全彻底。综合时间等因素考虑制订的方法采用主要以硫

酸消解，如果在土壤样品消煮过程中，长时间不能消煮完全，可以冷却后加几滴高氯酸后再消煮。

5.6.3 催化剂的选择

有方法^[2]使用的是混合催化剂 $K_2SO_4:CuSO_4:Se$ 催化剂，在消煮过程中有剧毒物质 H_2Se 产生，对环境造成污染并给操作者带来一定的安全隐患；ISO11261 规定可使用二氧化钛粉末替代硒粉。准确称取 9 种土壤各 0.5000g 放入 50ml 凯氏瓶中，分别加入两种不同的催化剂，加少量水润湿后再加 5ml 浓 H_2SO_4 ，置于电热板上消解至瓶内土壤呈现灰白，取下冷却，加碱蒸馏，以硼酸吸收，用盐酸滴定氨氮含量。以 $K_2SO_4:CuSO_4:Se$ 催化剂所得结果为 100%，比较使用不同的催化剂进行消化时的测定结果。从而选择催化效果较好的催化剂。结果见表 3。

(1) $K_2SO_4:CuSO_4:Se$ 催化剂

称取 100g 硫酸钾、10g 五水合硫酸铜和 1gSe 粉于玛瑙研钵中充分混均，研细。每次消解加入 2g 催化剂。

(2) $K_2SO_4:CuSO_4:TiO_2$ 催化剂 (ISO11261 方法)

称取 200g 硫酸钾、6g 五水合硫酸铜和 6g 二氧化钛于玛瑙研钵中充分混均，研细。每次消解加入 1.1g 催化剂。

表 3 催化剂的选择实验结果

土样名称	Se 粉混合物催化消解		TiO_2 混合物催化消解	
	含氮量 (mg/kg)	产率 (%)	含氮量 (mg/kg)	产率 (%)
粘质潮土	902	100	920	102.0
重壤质潮土	511	100	508	99.4
砂土果园	435	100	435	100
滨海盐土	266	100	265	99.6
粗骨性褐土	1700	100	1687	99.2
淋溶褐土	743	100	740	99.6
沙质潮土	333	100	336	100.9
石灰性褐土	849	100	850	100.1
农田土	1299	100	1329	102.3
平均值	—	100	—	100.3

通过比较得到，二氧化钛粉末替代硒粉催化效果较好，并且安全无污染。所以制订的方法采用混合催化剂 $K_2SO_4: CuSO_4: TiO_2$ 。

5.6.4 样品的采集和保存

土壤样品采集和保存参照 HJ 166 相关规定执行。

5.6.5 试样的制备

将土壤样品置于风干盘中，平摊成 2~3cm 厚的薄层，先剔除植物、昆虫、石块等残体，用铁锤或瓷质研磨棒压碎土块，每天翻动几次，自然风干。

统分混匀风干土壤，采用四分法，取其两份，一份留存，一份研磨至全部通过 2mm (10 目) 土壤筛。取 10g~20g 过筛后的土壤样品，研磨至全部通过 0.25mm (60 目) 土壤筛，装于样品袋或样品瓶中，待测。

5.6.6 干物质含量的测定

准确称取过 2mm (10 目) 筛后的土壤样品, 参照 HJ 613-2011 测定土壤的干物质含量。

5.6.7 试料的制备

称取适量试样 (6.2) 0.2000g~1.0000g(含氮约 1mg), 精确到 0.1mg, 放入长颈烧瓶 (或试管) (5.5)中, 用少量水 (约 0.5ml~1ml) 润湿, 再加入 4ml 浓硫酸(4.1), 瓶口盖上小漏斗, 转动烧瓶使其混合均匀, 浸泡数小时 (或过夜), 待测。

5.6.8 消解

使用干燥的长颈漏斗将 0.5g 硫代硫酸钠粉末加到烧瓶底部 (如果无机氮含量低可以忽略, 这一步可以省略), 放在消解器 (或电热板) 上加热, 待冒烟后关火。冷却后, 加入 1.1g 混合催化剂粉末, 摇匀, 在消解器 (或电热板) 上消煮。消煮温度不能超过 400℃, 使白烟到达瓶颈 1/3 处回旋, 待消煮液和土样全部变成灰白色稍带绿色后, 再继续消煮 1h 停火 (在土壤样品消煮过程中, 如果长时间消煮, 土样颜色仍然很深, 可以冷却后加几滴高氯酸后再消煮)。

5.6.9 空白试验

长颈烧瓶 (或试管) 中不加入试料, 按照与样品相同的测定步骤, 记录所用盐酸标准溶液体积。空白样消耗盐酸标准溶液的体积应小于 1.50ml。

5.6.10 最佳消解方式的确定

通过以上实验, 制订的新方法采用的最佳消解方式为:

- (1) 用五水合硫代硫酸钠粉末作为还原剂;
- (2) 主要以硫酸为氧化剂, 必要时可加少量高氯酸;
- (3) 采用 K_2SO_4 : $CuSO_4$: TiO_2 为催化剂。

5.6.11 检出限的确定

根据滴定管所产生的最小液滴的体积和称样量计算: 滴定管的最小液滴为 0.05 ml, 当取样量为 0.5 g 时, 方法检出限为:

$$DL(N) (mg/kg) = 0.05 (ml) \times 0.01 (mol/L) \times 14 (g/mol) \times 10^3 / 0.5 (g) = 14 (mg/kg)。$$

5.6.12 测定范围的确定

测定下限: 以 4 倍的检出限作为测定下限, 即 $RQL=4*MDL=56 mg/kg$ 。

5.7 结果计算与表示

土壤中全氮的含量 (mg/kg) 按以下公式计算:

$$w_N = \frac{(V_1 - V_0) \times c(H^+) \times M_N \times 1000}{m} \times \frac{100 + w_{H_2O}}{100}$$

w_N : 土壤中全氮的含量 (mg/kg)。

V : 馏出液体积 (ml)。

V_1 : 样品消耗硫酸标准溶液的体积(ml)。

V_0 : 空白消耗硫酸标准溶液的体积(ml)。

$C(H^+)$: 硫酸标准溶液的浓度 (mol/L)。

M_N : 氮的摩尔质量(14g/mol)。

w_{H_2O} : 土壤样品的含水率 (%)。

m : 称取土样的重量 (g)。

5.8 质量保证和质量控制

5.8.1 空白试验

每批样品应至少作一个全程序空白，样品测定结果中应扣除空白值。对 20 次空白测定值数据，进行统计分析，绘制控制图。

表 5 空白值测定结果

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
空白值(ml)	0.65	0.58	0.72	0.85	0.66	0.70	0.80	0.60	0.52	0.50
测定次数	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
空白值(ml)	0.48	0.30	0.78	0.75	0.80	0.88	0.70	0.60	0.55	0.58
平均值 \bar{x} (ml)	0.65				标准偏差 S (ml)				0.14	

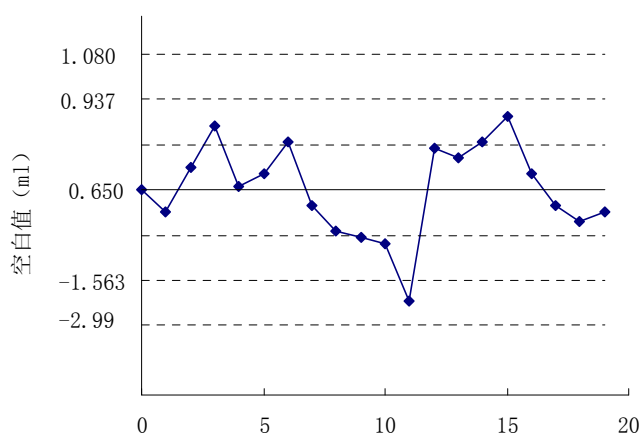


图 1 空白值控制图

由图 1 得到，空白值在 0.30~0.85ml，平均值为 0.65ml，控制上限为 1.08ml。

5.8.2 平行样测定

根据 HJ/T166-2004 “13.2.1 精密度控制”，每批样品应进行 20%的平行样品测定，当 5 个样品以下时，平行样不少于 1 个。平行双样测量结果相对偏差应在 15%以内。

5.8.3 标准样品测定

根据 HJ/T166-2004 “13.2.2 准确度控制”，每批要带测质控平行双样，在测定的精密度合格的前提下，质控样测定值必须落在质控样保证值（在 95%的置信水平）范围之内，否则本批结果无效，需重新分析测定。

5.8.4 样品加标回收率测定

根据 HJ/T166-2004“13.2.2 准确度控制”，如果没有标准土壤样品，每批样品应进行 10%~20%的回收率测定，样品数不足 10 个时，适当增加加标比率。加标量视被测组分含量而定，含量高的加入被测组分含量的 0.5~1.0 倍，含量低的加 2~3 倍，但加标后被测组分的总量不得超出方法的测定上限。加标浓度宜高，体积应小，不应超过原试样体积的 1%，否则需进行体积校正。实际样品加标回收率应在 80%~120%以内。

5.8.5 实验室内方法的精密度和准确度测定

(1) 方法精密度

a. 将一种低含量的土壤样品(滨海盐土)分成三份，分别加入 0.50ml、1.00ml、3.00ml 的标准溶液（L-谷氨酸标准溶液，含氮 500 μ g/ml），对上述三份样品分别平行测定 6 次，结果填入《方法验证报告》表 5 中，并按表中规定进行计算。

表 5 精密度测试数据

平行号		试样		
		浓度 1	浓度 2	浓度 3
测定结果 (mg/kg)	1	230	528	1189
	2	249	499	1235
	3	212	512	1221
	4	224	530	1280
	5	268	553	1196
	6	218	511	1254
平均值 \bar{x} (mg/kg)		234	522	1229
标准偏差 S (mg/kg)		21.1	19.0	34.7
相对标准偏差 RSD %		9.1	3.6	2.8

b. 对 9 种不同的土样分别平行测定 6 次，计算每种土样的标准偏差和变异系数，结果见表 6。

表 6 精密度实验结果

土样名称	测定值 (mg/kg)						平均值 (mg/kg)	标准偏差 (mg/kg)	变异系数 (%)
	1	2	3	4	5	6			
粘质潮土	910	892	988	1008	945	973	953	45.4	4.8
重壤质潮土	524	489	516	508	495	513	508	13.2	2.6
砂土果园	444	418	417	428	449	453	435	15.9	3.7
滨海盐土	311	272	259	265	261	222	265	28.5	10.8
粗骨性褐土	1727	1600	1689	1627	1718	1763	1687	62.5	3.7
淋溶褐土	723	762	751	740	741	726	740	14.8	2.0
沙质潮土	328	345	353	345	313	333	336	14.5	4.3
石灰性褐土	838	893	852	832	867	820	850	26.5	3.1
农田土	1309	1345	1362	1294	1319	1345	1329	25.8	1.9

由表 5 和表 6 的测定结果可知，本实验室内测定结果的相对标准偏差为 1.9%~10.8%。

(2) 方法准确度

a. 加标回收试验

对 9 种不同的土样加入 L-谷氨酸标准溶液（含氮 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）进行加标回收实验。结果见表 7。

表 7 有机氮的加标回收实验结果

土样名称	本底氮量 (μg)	加标量 (μg)	测定量 (μg)	回收量 (μg)	加标回收率 (%)
粘质潮土	509.0	400.0	879.5	370.5	92.6
重壤质潮土	250.0	200.0	415.0	165.0	82.5
砂土果园	213.5	200.0	405.5	192.0	86.0
滨海盐土	262.0	250.0	469.6	83.0	83.0
粗骨性褐土	837.5	400.0	1221.5	384.0	96.0
淋溶褐土	372.0	200.0	558.0	196.0	88.0
沙质潮土	166.0	100.0	251.0	85.0	85.0
石灰性褐土	438.0	200.0	621.5	183.5	91.8
农田土	667.5	400.0	1045	377.5	94.4

由表7得到该测定方法的加标回收率为82.5%~96.0%。

b. 有证标准样品的测定

从中国计量科学研究院购买标准土壤样品华北平原 GSS-13，标准值为（720 \pm 90）mg/L，平行测定 6 次，计算标准偏差和变异系数，结果见表 8。

表 8 有证标准样品测定结果

实验室编号	测定值 (g/kg)						平均值 (g/kg)	变异系数 (%)	相对误差 (%)
	1	2	3	4	5	6			
1	710	701	718	702	707	723	710	1.2	1.4

由表8得到，采用优化的实验条件对标准土壤样品的测定结果均合格，变异系数在1.2%，相对误差为1.4%。

6 方法验证

依照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ168-2010）的要求进行方法的验证。

6.1 方法验证方案

选择 6 家具有资质的实验室参加方法的验证工作，参加验证的实验室、验证人员的基本情况见表 9。

表 9 参加验证的人员情况登记表

验证单位	验证人员	性别	年龄	验证人员职称	所学专业	参加分析工作年限
国家环境保护恶臭污染控制重点实验室	邹克华	男	36	正高级工程师	化学工程	11
	王 良	男	32	高级工程师	分析化学	9
	韩 萌	女	31	工程师	环境化学	5
农业部环境保护科研监测所	黄永春	男	34	博士	环境化学	3
河东环境监测站	陈力	女	41	工程师	环境监测	18
塘沽环境监测站	门娟	女	38	博士	有机化学	7

	李筋	女	36	工程师	财务管理	7
	张稚妍	女	29	工程师	环境科学	3
东丽环境监测站	刘利昆	女	38	助理工程师	环境工程	17
	潘辉	女	33	助理工程师	环境	12
河北环境监测站	张小梅	女	43	高级工程师	高分子	21
	李钧	男	26	技术员	环境工程	4

6.1.2 方法验证方案

(1) 精密度的验证

选择全氮浓度为 250mg/kg、500 mg/kg 和 1500 mg/kg 的 3 种土壤样品作为统一样品，由各个实验室进行测定，每种样品平行测定 6 次。将所得数据填入《方法验证报告》（表 5）中。按规定公式进行平均值、标准偏差、相对标准偏差等各项参数的计算。

(2) 准确度的验证

a. 加标回收率试验

6 个实验室对含氮量分别为 265mg/kg、435 mg/kg 和 1329 mg/kg 的实际土壤样品进行了加标分析测试，加标量控制在 0.5~2 倍之间，每种样品平行测定 6 次。将所得数据填入《方法验证报告》（表 5）中。按规定公式进行平均值、标准偏差、相对标准偏差等各项参数的计算。

b. 有证标准样品的测定

从中国计量科学研究院购买的标准土壤样品华北平原 GSS-13，标准值为（720±90）mg/L，平行测定 6 次，结果填入《方法验证报告》（表 6）中，并按规定公式进行绝对误差、相对误差和相对误差的相对标准偏差的计算。

(3) 检出限和测定下界的验证

按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）的规定，滴定法的检出限可根据滴定管所产生最小液滴的体积计算得到。因此，该方法的检出限和测定下界通过计算方法确定，无须多家实验室验证。

6.2 方法验证过程

2010 年 3 月邀请了 6 家具有资质且具有相关分析仪器的实验室，分析人员利用本单位现有的仪器设备，按照统一的方法验证指导书进行方法的验证。

参加验证的人员都承担了很多单位内的分析工作，验证的工作量较大，为了达到良好的比对效果，我们选取了不同类型、不同含量的三种样品，分成 6 份发给各个实验室，并使用统一购买的有证标准样品 GSS-13 进行验证。有的实验室条件有限，因此我们邀请验证人员在本实验室进行验证。

6.3 方法验证结论

本验证方法采用土壤中全氮的测定-凯氏法。现将 6 家实验室方法验证结果归属如下：

本方法的最低检出限：当取样量为 0.5g 时，为 14 mg/kg。方法测定下限为：56 mg/kg。

在实验室内，对 8 种不同的土壤样品分别平行测定 6 次，得到相对标准偏差为 1.9%~10.8%；通过加标回收实验得到加标回收率为 82.5%~96.0%。

6 个实验室对含全氮浓度为 250mg/kg、500 mg/kg 和 1500 mg/kg 的统一样品进行了测定，实验室内相对标准偏差为：2.0%~12.1%、3.1%~7.3%、2.2% ~4.8%；实验室间相对标准偏差为：5.1%、6.9%、5.0%；重复性限为：66.0mg/kg、77.4 mg/kg、122 mg/kg；再现性限为 71.1mg/kg、126mg/kg、220mg/kg。

6 个实验室对含氮量分别为 265mg/kg、435mg/kg 和 1329mg/kg 的实际土壤样品进行了加标分析测定，加标回收率分别为 88.4%~105%、88.2%~109%、87.3%~99.4%；加标回收率最终值为 (94.0±11.8)%、(96.0±14.0)%、(92.9±7.8)%。

4 个实验室对含氮量为 (720±90) mg/L 标准样品进行了分析测定，相对误差最终值为 (-0.5±4.4)%。

该方法具有较好的重复性和再现性，方法各项预期特征指标达到预期要求，详见《方法验证报告》。

7 与开题报告的差异说明

(1) 开题时方法标准的题目为《土壤质量 全氮的测定-凯氏法和元素分析法》2009 年 12 月方法开题时，经专家讨论决定将该方法分成两个方法：《土壤质量 全氮的测定-凯氏法》和《土壤质量 全氮的测定-元素分析法》，由于本实验室没有元素分析仪，因此后者的制订工作由国家测试中心完成。

(2) 详细描述实验过程中的现象以及注意事项。

(3) 细化质量保证和质量控制措施。

(4) 通过试验确定方法特征参数，以各类典型样品的平行测定和加标回收率试验以及有证标准样品的测定开展验证实验。

8 参考文献

[1] Galloway J N. The global nitrogen cycle: Changes and consequences[J]. Environ Pollut,1998,102(1,suppl.1):15-24

[2] 中国科学院南京土壤研究所.土壤理化分析[M].上海:上海科学技术出版社,1980.1.

[3] Buondonno A, Coppolaa E, Palmieria G, Benedettib A, Dell 'Orcobs, Nemethe K, Barbierid G, De Pascaleds, Monitoring nitrogen forms in soil/plant systems under different fertilizer managements, A preliminary investigation [J]. Eur J Agron, 1997, 7(4):293-300.

- [4] 袁旭音,陈骏,陶于祥,季峻峰,许乃政.《太湖北部底泥中氮、磷的空间变化和环境意义》[J].地球化学,2002,31(4):321-328
- [5] 蔡利华,奉文贵.《流动注射法测土壤全氮全磷》[J].塔里木农垦大学学报,2002,14(1):25-28.
- [6] 段立珍.《两种测定土壤全氮量的方法比较》[J].安徽农业技术师范学院学,1997,11(4):57-58.
- [7] 中华人民共和国环境保护法
- [8] 范志影等.《用凯氏法和杜马斯法测定植物样品中的全氮》[J].现代科学仪器,2007,1:46-47.
- [9] 江伟等.《凯氏蒸馏法和元素分析仪法测定沉积物中全氮含量的异同及意义》[J].地球化学,35(3):319-324.
- [10] 鲍士旦.《土壤农化分析(第三版)》[M].北京:中国农业出版社,2000:42-49.
- [11] 朱江,周俊.《纳米 TiO₂ 粉末在土壤全氮测定中的催化作用》[J].安徽化工,2000,103(2):19-20.
- [12] 朱江,周俊,麻英,李燕.《纳米 ZnO 粉末在土壤全氮测定中的催化作用》[J].安徽农业大学学报,2003,30(2):128~130.
- [13] 夏方等.《土壤全氮测定中消化方法对分析结果的影响》[J].宁夏农林科技,1997,3:30-31.
- [14] 中国科学院南京土壤研究所.《土壤理化分析》[M].上海科学技术出版社,1977,62-71.
- [15] The Perkin Elmer Corporation. Perkin Elmer Model 2400 Elemental Analyzer Instruction Manual[Z]. Norwalk: The Perkin Elmer Corporation, 1998.
- [16] ISO11261:1995, Soil quality -- Determination of total nitrogen -- Modified Kjeldahl method [S].

附录一

方法验证报告

方法名称： 土壤质量 全氮的测定—凯氏法

项目主编单位： 天津市环境监测中心站

验证单位： 国家环境保护恶臭污染控制重点实验室、农业部环境保护科研
检测所、天津市河东区环境监测站、天津市塘沽区环境监测站、天津市东
丽区环境监测站、天津市河北区环境监测站

项目负责人及职称： 魏恩棋 副高级工程师

通讯地址： 天津市南开区复康路 19 号 电话： 022-23051647

报告编写人及职称： 王琳 工程师

报告日期： 2010 年 4 月 30 日

依照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ168-2010）的要求，组织 6 家有资质的实验室进行验证。其中实验室 1 为国家环境保护恶臭污染控制重点实验室、实验室 2 为农业部环境保护科研检测所、实验室 3 为天津市河东区环境监测站、实验室 4 为天津市塘沽区环境监测站、实验室 5 为天津市东丽区环境监测站、实验室 6 为天津市河北区环境监测站。

A.1 原始测试数据

A.1.1 实验室基本情况

表 A1-1 参加验证的人员情况登记表

验证单位	验证人员	性别	年龄	验证人员职称	所学专业	参加分析工作年限
国家环境保护恶臭污染控制重点实验室	邹克华	男	36	正高级工程师	化学工程	11
	王 良	男	32	高级工程师	分析化学	9
	韩 萌	女	31	工程师	环境化学	5
农业部环境保护科研检测所	黄永春	男	34	博士	环境化学	3
河东环境监测站	陈力	女	41	工程师	环境监测	18
塘沽环境监测站	门 娟	女	38	博士	环境化学	14
	门娟	女	38	工程师	有机化学	7
	李舫	女	36	工程师	财务管理	7
东丽环境监测站	刘利昆	女	38	助理工程师	环境工程	17
	潘辉	女	33	助理工程师	环境	12
河北环境监测站	张小梅	女	43	高级工程师	高分子	21
	李钧	男	26	技术员	环境工程	4

表 A1-2 使用仪器情况登记表

验证实验室	仪器名称	规格型号	仪器出厂编号	性能状况 (计量/校准状态、量程、灵敏度等)
国家环境保护恶臭污染控制重点实验室	分析天平	AR2140	1201310779	0.1mg
农业部环境保护科研检测所	分析天平	CPA225D	24190372	0.1mg
河东环境监测站	分析天平	AL104	1226111203	0.1mg
塘沽环境监测站	分析天平	AB204-S	1125272737	0.1mg
东丽环境监测站	分析天平	AB135-S	1123256701	0.1mg

河北环境监测站	分析天平	AG204	11119030720	0.1mg
---------	------	-------	-------------	-------

表 A1-3 使用试剂及溶剂登记表

验证试验室	试剂及溶剂名称	生产厂家、规格	纯化处理方法
国家环境保护恶臭污染控制 重点实验室 农业部环境保护科研检测所 河东环境监测站 塘沽环境监测站 东丽环境监测站 河北环境监测站	硫酸	天津市大茂化学试剂厂/500ml/分析纯	——
	盐酸	天津市风船化学试剂科技有限公司/500ml/ 高纯	——
	高氯酸	天津市大茂化学试剂厂/500ml/分析纯	——
	氢氧化钠	天津市津科精细化工研究所 /500g/分析纯	——
	硫酸铜	天津市北方天医化学试剂厂/500g/分析纯	——
	硫代硫酸钠	天津市大茂化学试剂厂/500g/分析纯	——
	二氧化钛	天津市化学试剂三厂/500g/分析纯	——
	无水碳酸钠	天津市风船化学试剂科技有限公司/25g/基 准试剂	——
	硼酸	天津市天大化工实验厂/500g/分析纯	——
	甲基红	北京化工厂/25g/指示剂	——
	溴甲酚绿	天津市风船化学试剂科技有限公司/25g/指 示剂	——

A.1.2 方法检出限、测定下限测试数据

按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）的规定，滴定法的检出限可根据滴定管所产生最小液滴的体积计算得到。因此，该方法的检出限和测定下限通过计算方法确定，无须多家实验室验证。

(1) 检出限的确定

根据滴定管所产生的最小液滴的体积和称样量计算：滴定管的最小液滴为 0.05 ml，当取样量为 0.5 g 时，方法检出限为：

$$DL(N) (\text{mg/kg}) = 0.05 (\text{ml}) \times 0.01 (\text{mol/L}) \times 14 (\text{g/mol}) \times 10^3 / 0.5 (\text{g}) = 14 (\text{mg/kg})。$$

(2) 测定范围的确定

测定下限：以 4 倍的检出限作为测定下限，即 $RQL = 4 \times MDL = 56 \text{ mg/kg}$ 。

A.1.3 方法精密度测试数据

选择全氮浓度为 250mg/kg、500 mg/kg 和 1500 mg/kg 的 3 种土壤样品作为统一样品，分别由各个实验室进行测定，每种样品平行测定 6 次，计算平均值、标准偏差、相对标准偏差。

表 A1-4 精密度测试数据

验证单位: 1

测试日期: 2011 年 1 月

平行号		试样			备注
		含量 1	含量 2	含量 3	
测定结果 (mg/kg)	1	220	488	1302	—
	2	252	497	1386	—
	3	277	527	1354	—
	4	225	508	1270	—
	5	218	556	1348	—
	6	285	544	1325	—
平均值 \bar{x} (mg/kg)		246	520	1331	—
标准偏差 S (mg/kg)		29.7	26.9	41.1	—
相对标准偏差 RSD (%)		12.1	5.2	3.1	—

验证单位: 2

测试日期: 2011 年 1 月

平行号		试样			备注
		含量 1	含量 2	含量 3	
测定结果 (mg/kg)	1	229	508	1416	—
	2	238	528	1360	—
	3	280	519	1405	—
	4	256	537	1386	—
	5	268	589	1485	—
	6	243	566	1361	—
平均值 \bar{x} (mg/kg)		252	541	1402	—
标准偏差 S (mg/kg)		19.3	30.6	46.5	—
相对标准偏差 RSD (%)		7.6	5.7	3.3	—

验证单位: 3

测试日期: 2011 年 1 月

平行号		试样			备注
		含量 1	含量 2	含量 3	
测定结果 (mg/kg)	1	254	477	1263	—
	2	294	475	1345	—
	3	269	490	1209	—
	4	267	542	1264	—
	5	317	526	1173	—

	6	236	565	1213	—
平均值 \bar{x} (mg/kg)		273	512	1244	—
标准偏差 S (mg/kg)		28.8	37.4	60.3	—
相对标准偏差 RSD (%)		10.6	7.3	4.8	—

验证单位: 4

测试日期: 2011年1月

平行号		试样			备注
		含量 1	含量 2	含量 3	
测定结果 (mg/kg)	1	278	603	1472	—
	2	274	617	1458	—
	3	277	603	1430	—
	4	264	589	1500	—
	5	271	645	1514	—
	6	278	617	1402	—
平均值 \bar{x} (mg/kg)		274	612	1462	—
标准偏差 S (mg/kg)		5.47	19.1	42.2	—
相对标准偏差 RSD (%)		2.0	3.1	2.9	—

验证单位: 5

测试日期: 2011年1月

平行号		试样			试样
		含量 1	含量 2	含量 3	
测定结果 (mg/kg)	1	288	506	1293	
	2	312	523	1324	
	3	267	539	1306	
	4	292	564	1343	
	5	271	514	1282	
	6	252	491	1358	
平均值 \bar{x} (mg/kg)		280	523	1317	
标准偏差 S (mg/kg)		21.3	25.8	29.4	
相对标准偏差 RSD (%)		7.6	4.9	2.2	

验证单位: 6

测试日期：2011年1月

平行号		试 样			备注
		含量 1	含量 2	含量 3	
测定结果 (mg/kg)	1	235	538	1351	——
	2	282	504	1401	——
	3	255	528	1300	——
	4	269	514	1334	——
	5	259	504	1381	——
	6	316	561	1361	——
平均值 \bar{x} (mg/kg)		269	525	1355	——
标准偏差 S (mg/kg)		27.6	22.3	35.5	——
相对标准偏差 RSD (%)		10.3	4.2	2.6	——

A.1.4 方法准确度测试数据

(1) 实际样品加标测试数据

6个实验室对含氮量分别为 265mg/kg、435 mg/kg 和 1329 mg/kg 的实际土壤样品进行了加标分析测试，加标量控制在 0.5~2 倍之间，每种样品平行测定 6 次。计算平均值和加标回收率。

表 A1-5 实际样品加标测试数据

验证单位：____ 1 ____

测试日期：2011年2月

平行号		实际样品						备注
		样品 1		样品 2		样品 3		
		样品	样品 加标	样品	样品 加标	样品	样品 加标	
测定 结果 (μg)	1	259	526	492	976	937	2404	——
	2	290	498	563	907	1023	238	——
	3	268	555	512	926	911	2226	——
	4	239	507	488	956	972	2357	——
	5	306	467	464	1093	933	2275	——
	6	282	443	480	969	898	2291	——
平均值 \bar{x} (μg)		274	499	500	971	946	2322	——
加标量 u (μg)		——	250	——	500	——	1500	——
加标回收率 P (%)		——	90.0	——	94.2	——	91.7	——

验证单位：____ 2 ____

测试日期：2011年2月

平行号		实际样品						备注
		样品 1		样品 2		样品 3		
		样品	样品 加标	样品	样品 加标	样品	样品 加标	
测定 结果 (μg)	1	216	458	537	899	1088	2398	——
	2	209	451	480	856	985	2460	——
	3	301	510	421	978	908	2230	——
	4	223	532	555	989	866	2356	——
	5	256	402	526	929	979	2407	——
	6	281	399	489	1002	1034	2454	——
平均值 \bar{x} (μg)		248	459	501	942	977	2384	——
加标量 u (μg)		——	250	——	500	——	1500	——
加标回收率 P (%)		——	84.4	——	88.2	——	93.8	——

验证单位： 3

测试日期：2011年2月

平行号		实际样品						备注
		样品 1		样品 2		样品 3		
		样品	样品 加标	样品	样品 加标	样品	样品 加标	
测定 结果 (μg)	1	236	464	464	929	1097	2364	——
	2	321	591	371	844	862	2195	——
	3	219	439	380	810	692	2161	——
	4	203	456	523	1064	718	2347	——
	5	245	473	507	1013	1030	2296	——
	6	211	422	540	962	1064	2398	——
平均值 \bar{x} (μg)		239	474	464	937	910	2293	——
加标量 u (μg)		——	250	——	500	——	1500	——
加标回收率 P (%)		——	94.0	——	94.6	——	92.2	——

验证单位： 4

测试日期：2011年2月

平行号		实际样品						备注
		样品 1		样品 2		样品 3		
		样品	样品 加标	样品	样品 加标	样品	样品 加标	
测定 结果	1	130	378	216	441	751	1232	
	2	144	374	221	451	760	1242	

(μg)	3	130	377	202	444	720	1217	
	4	144	364	216	436	712	1221	
	5	144	371	212	484	694	1210	
	6	130	378	193	457	725	1224	
平均值 \bar{x} (μg)		137	374	210	452	727	1224	
加标量 u (μg)		—	250	—	250	—	500	
加标回收率 P (%)		—	94.8	—	96.8	—	99.4	

验证单位： 5

测试日期： 2011年2月

平行号		实际样品						备注
		样品 1		样品 2		样品 3		
		样品	样品加标	样品	样品加标	样品	样品加标	
测定结果 (μg)	1	298	556	415	883	954	1603	
	2	302	563	462	1043	836	2312	
	3	304	560	428	1012	915	2286	
	4	316	567	532	1283	984	2381	
	5	276	549	406	856	962	2416	
	6	282	553	482	915	1098	2613	
平均值 \bar{x} (μg)		296	558	454	999	958	2268	
加标量 u (μg)			250		500		1500	
加标回收率 P (%)			105		109		87.3	

验证单位： 6

测试日期： 2011年2月

平行号		实际样品						备注
		样品 1		样品 2		样品 3		
		样品	样品加标	样品	样品加标	样品	样品加标	
测定结果 (μg)	1	282	477	514	944	941	2362	—
	2	252	460	497	974	984	2389	—
	3	235	507	497	1011	998	2369	—
	4	259	511	480	958	991	2386	—
	5	225	494	477	917	1008	2335	—
	6	292	467	507	968	924	2352	—
平均值 \bar{x} (μg)		258	486	495	962	974	2365	—
加标量 u (μg)		—	250	—	500	—	1500	—

加标回收率 P (%)	—	91.4	—	93.3	—	92.7	—
---------------	---	------	---	------	---	------	---

(2) 有证标准物质测试数据

对从中国计量科学研究院购买的标准土壤样品华北平原 GSS-13, 标准值为 (720 ± 90) mg/L, 平行测定 6 次, 计算绝对误差、相对误差和相对误差的相对标准偏差。

表 A1-6 有证标准物质测试数据

验证单位: 1

测试日期: 2011 年 1 月

平行号		有证标准物质
测定结果 (mg/kg)	1	667
	2	698
	3	726
	4	707
	5	711
	6	702
平均值 \bar{x} (mg/kg)		702
有证标准样品浓度 μ^a (mg/kg)		720 ± 90
相对误差 RE_i (mg/kg)		-18
i 为实验室编号		
μ^a 国家有证标准物质的标准值 \pm 不确定度		

验证单位: 2

测试日期: 2011 年 1 月

平行号		有证标准物质
测定结果 (mg/kg)	1	710
	2	680
	3	736
	4	728
	5	751
	6	689
平均值 \bar{x} (mg/kg)		716
有证标准样品浓度 μ^a (mg/kg)		720 ± 90

相对误差 RE _i (mg/kg)	-4
i 为实验室编号	
μ ^a 国家有证标准物质的标准值±不确定度	

验证单位: 3

测试日期: 2011 年 1 月

平行号		有证标准物质
测定结果 (mg/kg)	1	716
	2	730
	3	807
	4	734
	5	713
	6	737
平均值 \bar{x} (mg/kg)		739
有证标准样品浓度 μ ^a (mg/kg)		720±90
相对误差 RE _i (mg/kg)		19
i 为实验室编号		
μ ^a 国家有证标准物质的标准值±不确定度		

验证单位: 6

测试日期: 2011 年 1 月

平行号		有证标准物质
测定结果 (mg/kg)	1	696
	2	706
	3	729
	4	712
	5	719
	6	706
平均值 \bar{x} (mg/kg)		711
有证标准样品浓度 μ ^a (mg/kg)		720±90
相对误差 RE _i (mg/kg)		-9
i 为实验室编号		
μ ^a 国家有证标准物质的标准值±不确定度		

A.1.5 空白值测试数据

表 A1-7 空白值测定结果

验证单位： 1

测试日期： 2012年8月

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
空白值(ml)	0.65	0.58	0.72	0.85	0.66	0.75	0.80	0.60	0.52	0.50
测定次数	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
空白值(ml)	0.48	0.30	0.78	0.75	0.80	0.88	0.70	0.60	0.55	0.58
平均值 \bar{x} (ml)		0.66				标准偏差 S (ml)			0.16	

验证单位： 2

测试日期： 2012年8月

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
空白值(ml)	1.05	0.95	0.30	0.50	0.88	1.10	0.65	0.70	0.95	0.80
测定次数	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
空白值(ml)	1.15	0.90	0.80	0.68	0.75	0.80	0.40	0.50	0.80	0.60
平均值 \bar{x} (ml)		0.76				标准偏差 S (ml)			0.23	

验证单位： 3

测试日期： 2012年8月

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
空白值(ml)	0.25	0.55	0.50	0.70	1.25	1.05	0.68	0.90	0.85	0.60
测定次数	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
空白值(ml)	0.30	0.40	1.20	0.60	0.85	0.50	0.30	0.90	1.00	0.90
平均值 \bar{x} (ml)		0.71				标准偏差 S (ml)			0.30	

验证单位： 4

测试日期： 2012年8月

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
空白值(ml)	0.35	0.65	0.35	0.60	1.08	0.95	0.75	0.50	0.25	0.90
测定次数	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
空白值(ml)	0.45	0.50	0.90	0.78	0.55	1.35	1.40	0.80	0.90	0.70

平均值 \bar{x} (ml)	0.74	标准偏差 S (ml)	0.31
--------------------	------	---------------	------

验证单位: 5

测试日期: 2012年8月

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
空白值(ml)	1.35	1.50	1.20	1.00	1.00	1.00	1.05	0.90	1.25	0.90
测定次数	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
空白值(ml)	0.80	1.10	1.05	1.35	1.40	0.90	1.40	1.20	0.95	1.05
平均值 \bar{x} (ml)	1.12				标准偏差 S (ml)				0.20	

验证单位: 6

测试日期: 2012年8月

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
空白值(ml)	0.35	0.45	0.30	0.50	0.48	0.30	0.65	0.60	0.25	0.40
测定次数	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
空白值(ml)	0.70	0.60	0.20	0.58	0.65	0.70	0.30	0.40	0.50	0.70
平均值 \bar{x} (ml)	0.48				标准偏差 S (ml)				0.16	

A.2 方法验证数据汇总 (以下结果均按照 GB/T6379.6-2009 进行了异常数据的剔除)

A.2.1 方法精密度测试数据汇总

表 A2-1 精密度测试数据汇总表

单位: mg/kg

实验室号	样品 1			样品 2			样品 3		
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)
1	246	29.7	12.1	520	26.9	5.2	1331	41.1	3.1
2	252	19.3	7.6	541	30.6	5.7	1402	46.5	3.3
3	273	28.8	10.6	512	37.4	7.3	1270	60.3	4.8
4	274	5.47	2.0	612	19.1	3.1	1462	42.2	2.9
5	280	21.3	7.6	523	25.8	4.9	1317	29.4	2.2
6	269	27.6	10.3	525	22.3	4.2	1355	35.5	2.6
\bar{x}	267			539			1356		
S'	13.5			37.1			67.7		

RSD' (%)	5.1	6.9	5.0
重复性限 r	66.0	77.4	122
再现性限 R	71.1	126	220

结论：6个实验室对含全氮浓度为250mg/kg、500 mg/kg和1500 mg/kg的统一样品进行了测定，实验室内相对标准偏差为：2.0%~12.1%、3.1%~7.3%、2.2%~4.8%；实验室间相对标准偏差为：5.1%、6.9%、5.0%；重复性限为：66.0mg/kg、77.4 mg/kg、122 mg/kg；再现性限为71.1mg/kg、126mg/kg、220mg/kg。

A. 2. 2 方法准确度测试数据汇总（以下结果均按照 GB/T6379. 6-2009 进行了异常数据的剔除）

(1) 实际样品加标测试数据汇总

表 A2-2 实际样品加标测试数据汇总表

实验室号	样品1	样品2	样品3
	P_i (%)	P_i (%)	P_i (%)
1	90.0	94.2	91.7
2	88.4	88.2	93.8
3	94.0	94.6	92.2
4	94.8	96.8	99.4
5	105	109	87.3
6	91.4	93.3	92.7
\bar{P} (%)	93.9	96.0	92.9
$S_{\bar{P}}$ (%)	5.9	7.0	3.9

结论：6个实验室对含氮量分别为265mg/kg、435mg/kg和1329mg/kg的实际土壤样品进行了加标分析测定，加标回收率分别为88.4%~105%、88.2%~109%、87.3%~99.4%；加标回收率最终值为(94.0±11.8)%、(96.0±14.0)%、(92.9±7.8)%。

(2) 有证标准样品测试数据汇总

表A2-3有证标准样品测试数据汇总表

实验室号	华北平原GSS-13含量 (mg/kg)	
	\bar{x}_i	RE_i (%)
1	702	-2.5
2	716	-0.6
3	739	2.6
4	—	—

5	—	—
6	711	-1.3
$\overline{RE}(\%)$	—	-0.5
$S_{\overline{RE}}(\%)$	—	2.2

结论：4个实验室对含氮量为(720±90) mg/kg标准样品进行了分析测定，相对误差最终值为(-0.5±4.4)%。

A. 2. 3 空白值测试数据汇总

表 A2-4 空白值（空白样品所消耗的盐酸标准溶液体积）测试数据汇总表 单位：ml

实验室号	1	2	3	4	5	6
平均值 \bar{x}_i	0.66	0.76	0.71	0.74	1.12	0.48
标准偏差 S_i	0.16	0.23	0.30	0.31	0.20	0.16
\bar{x}	0.75					
$S = \sqrt{\frac{\sum S_i^2}{6}}$	0.23					
$\bar{x} + 3S$	1.44					

A. 3 方法验证结论

A. 3. 1 验证过程中异常值的解释、更正或剔除的情况及理由。

异常值的检验和处理按照 GB/T6379. 6-2009 标准进行。在统计分析时未发现异常值。

A. 3. 2 方法特性指标的描述

本验证方法采用凯氏法测定土壤全氮含量，现将6家实验室的方法验证结果归属如下：

(1) 方法检出限

根据滴定管所产生的最小液滴的体积和称样量计算：滴定管的最小液滴为0.05 ml，当取样量为0.5 g时，方法检出限为：

$$DL(N) (\text{mg/kg}) = 0.05 (\text{ml}) \times 0.01 (\text{mol/L}) \times 14 (\text{g/mol}) \times 10^3 / 0.5 (\text{g}) = 14 (\text{mg/kg})。$$

(2) 测定范围

测定下限：以4倍的检出限作为测定下限，即 $RQL=4 \times MDL=56 \text{ mg/kg}$ 。

(3) 方法精密度

实验室内相对标准偏差分别为：含全氮 250mg/kg 实验室内相对标准偏差 2.0%~12.1%；含全氮 500mg/kg 实验室内相对标准偏差 3.1%~7.3%；含全氮 1500mg/kg 实验室内相对标准偏差 2.2%~4.8%。

实验室间相对标准偏差分别为：含全氮 250mg/kg 实验室间相对标准偏差为 5.1%；含全氮 500mg/kg 实验室间相对标准偏差为 6.9%；含全氮 1500mg/kg 实验室间相对标准偏差为 5.0%。

重复性限为：含全氮 250mg/kg 重复性限为 66.0mg/kg；含全氮 500mg/kg 重复性限为 77.4 mg/kg；含全氮 1500mg/kg 重复性限为 122mg/kg。

再现性限为：含全氮 250mg/kg 再现性限为 71.1mg/kg；含全氮 500mg/kg 再现性限为 126 mg/kg；含全氮 1500mg/kg 再现性限为 220mg/kg。

(4) 方法准确度

6 个实验室对含氮量分别为 265mg/kg、435mg/kg 和 1329mg/kg 的实际土壤样品进行了加标分析测定

加标回收率为：87.3%~109%。

加标回收率最终值分别为：(94.0±11.8)%、(96.0±14.0)%、(92.9±7.8)%。

4 个实验室对含氮量为 (720±90) mg/L 标准样品进行了分析测定，相对误差最终值为 (-0.5±4.4)%

(5) 空白值控制范围

对 6 个实验室的 20 次空白值数据进行统计分析，得到空白值在 0.20~1.50ml 之间，平均值为 0.75ml，控制上限为 1.44ml。所以，空白值应小于 1.50ml。

A. 3. 3 该方法具有较好的重复性和再现性，方法各项预期特征指标达到预期要求。