

土壤 氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的测定 氯化钾溶液提取-分光光度法 (HJ 634—2012)

1适用范围

本标准规定了测定土壤中氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的氯化钾溶液提取 - 分光光度法。

本标准适用于土壤中氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的测定。

当样品量为40.0g时, 本方法测定土壤中氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的检出限分别为0.10mg/kg、0.15mg/kg、0.25mg/kg, 测定下限分别0.40mg/kg、0.60mg/kg、1.00mg/kg。

2规范性引用文件

本标准内容引用了下列文件中的条款。凡是不注日期的引用文件, 其有效版本适用于本标准

HJ 168环境监测分析方法标准制修订技术导则

HJ 613土壤干物质和水分的测定重量法

HJ/T 166土壤环境监测技术规范

ISO/TS14256-1土壤质量 硝酸盐氮、亚硝酸盐氮、氨氮的测定 氯化钾溶液提取法 (Soil quality-Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field-moist soils by extraction with potassium chloride solution)

3方法原理

3.1氨氮

氯化钾溶液提取土壤中的氨氮, 在碱性条件下, 提取液中的氨离子在有次氯酸根离子存在时与苯酚反应生成蓝色靛酚染料, 在630nm波长具有最大吸收。在一定浓度范围内, 氨氮浓度与吸光度值符合朗伯-比尔定律。

3.2亚硝酸盐氮

氯化钾溶液提取土壤中的亚硝酸盐氮, 在酸性条件下, 提取液中的亚硝酸盐氮与磺胺反应生成重氮盐, 再与盐酸N-(1-萘基)-乙二胺偶联生成红色染料, 在波长543nm波长具有最大吸收。在一定浓度范围内, 亚硝酸盐氮浓度与吸光度值符合朗伯-比尔定律。

3.3硝酸盐氮

氯化钾溶液提取土壤中的硝酸盐氮和亚硝酸盐氮, 提取液通过还原柱, 将硝酸盐氮还原为亚硝酸盐氮, 在酸性条件下, 亚硝酸盐氮与磺胺反应生成重氮盐, 再与盐酸N-(1-萘基)-乙二胺偶联生成红色染料, 在波长543nm处具有最大吸收, 测定硝酸盐氮和亚硝酸盐氮总量。硝酸盐氮和亚硝酸盐氮总量与亚硝酸盐氮含量之差即为硝酸盐氮含量。

4试剂和材料

除非另有注明, 分析时均使用符合国家标准分析纯试剂, 实验用水为电导率小于0.2mS/m (25℃时测定) 的去离子水。

4.1氨氮

4.1.1浓硫酸: $(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1.84\text{g/ml}$ 。

4.1.2二水柠檬酸钠 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

4.1.3 氢氧化钠 (NaOH)。

4.1.4 二氯异氰尿酸钠 ($C_3Cl_2N_3NaO_3 \cdot H_2O$)。

4.1.5 氯化钾 (KCl) : 优级纯。

4.1.6 氯化铵 (NH_4Cl) : 优级纯

于105℃下烘干2h。

4.1.7 氯化钾溶液: $c(KCl) = 1\text{mol/L}$

称取74.55g氯化钾(4.1.5), 用适量水溶解, 移入1000ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。

4.1.8 氯化铵标准贮备液: $(NH_4Cl) = 200\text{mg/L}$

称取0.764g氯化铵(4.1.6), 用适量水溶解, 加入0.30ml浓硫酸(4.1.1), 冷却后, 移入1000ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。该溶液在避光、4℃下可保存一个月。或直接购买市售有证标准溶液。

4.1.9 氯化铵标准使用液: $(NH_4Cl) = 10.0\text{mg/L}$

量取5.0ml氯化铵标准贮备液(4.1.8)于100ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。用时现配。

4.1.10 苯酚溶液

称取70g苯酚(C_6H_5OH)溶于1000ml水中。该溶液贮存于棕色玻璃瓶中, 在室温条件下可保存一年。

注: 配制苯酚溶液时应避免接触皮肤和衣物。

4.1.11 二水硝普酸钠溶液

称取0.8g二水硝普酸钠($Na_2[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$)溶于1000ml水中。该溶液贮存于棕色玻璃瓶中, 在室温条件下可保存三个月。

4.1.12 缓冲溶液

称取280g二水柠檬酸钠(4.1.2)及22.0g氢氧化钠(4.1.3), 溶于500ml水中, 移入1000ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。

4.1.13 硝普酸钠-苯酚显色剂

量取15ml二水硝普酸钠溶液(4.1.11)及15ml苯酚溶液(4.1.10)和750ml水, 混匀。

该溶液用时现配。

4.1.14 二氯异氰尿酸钠显色剂

称取5.0g二氯异氰尿酸钠(4.1.4)溶于1000ml缓冲溶液(4.1.12)中, 4℃下可保存一个月。

4.2 亚硝酸盐氮

4.2.1 浓磷酸: $(H_3PO_4) = 1.71\text{g/ml}$ 。

4.2.2 氯化钾 (KCl) : 优级纯。

4.2.3亚硝酸钠 (NaNO₂) : 优级纯

干燥器中干燥24h。

4.2.4氯化钾溶液 : c (KCl) =1mol/L

同4.1.7。

4.2.5亚硝酸盐氮标准贮备液 : (NO₂-N) =1000mg/L

称取4.926g亚硝酸钠 (4.2.3) , 用适量水溶解, 移入1000ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。该溶液贮存于聚乙烯塑料瓶中, 4℃下可保存六个月。或直接购买市售有证标准溶液。

4.2.6亚硝酸盐氮标准使用液 : (NO₂-N) =100mg/L

量取10.0ml亚硝酸盐氮标准贮备液 (4.2.5) 于100ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。用时现配。

4.2.7亚硝酸盐氮标准使用液 : (NO₂-N) =10.0mg/L

量取10.0ml亚硝酸盐氮标准使用液 (4.2.6) 于100ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。用时现配。

4.2.8磺胺溶液 (C₆H₈N₂O₂S)

向1000ml容量瓶中加入600ml水, 再加入200ml浓磷酸 (4.2.1) , 然后加入80g磺胺。

用水定容, 混匀。该溶液于4℃下可保存一年。

4.2.9盐酸N-(1-萘基)-乙二胺溶液

称取0.40g盐酸N-(1-萘基)-乙二胺 (C₁₂H₁₄N₂·2HCl) 溶于100ml水中。4℃下保存, 当溶液颜色变深时应停止使用。

4.2.10显色剂

分别量取20ml磺胺溶液 (4.2.8) 、20ml盐酸N-(1-萘基)-乙二胺溶液 (4.2.9) 、20ml浓磷酸 (4.2.1) 于100ml棕色试剂瓶中, 混合。4℃下保存, 当溶液变黑时应停止使用。

4.3硝酸盐氮

4.3.1浓磷酸 : (H₃PO₄) =1.71g/ml。

4.3.2浓盐酸 : (HCl) =1.12g/ml。

4.3.3镉粉 : 粒径0.3mm~0.8mm。

4.3.4氯化钾 (KCl) : 优级纯。

4.3.5硝酸钠 (NaNO₃) : 优级纯

干燥器中干燥24h。

4.3.6亚硝酸钠 (NaNO₂) : 优级纯

同4.2.3。

4.3.7氯化铵 (NH_4Cl)。

4.3.8硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)。

4.3.9氨水 (NH_4OH) : 优级纯。

4.3.10氯化钾溶液 : $c(\text{KCl}) = 1\text{mol/L}$

同4.1.7。

4.3.11硝酸盐氮标准贮备液 : $(\text{NO}_3\text{-N}) = 1000\text{mg/L}$

称取6.068g硝酸钠 (4.3.5), 用适量水溶解, 移入1000ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。

该溶液贮存于聚乙烯塑料瓶中, 4℃下可保存六个月。或直接购买市售有证标准溶液。

4.3.12硝酸盐氮标准使用液 : $(\text{NO}_3\text{-N}) = 100\text{mg/L}$

量取10.0ml硝酸盐氮标准贮备液 (4.3.11) 于100ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。用时现配。

4.3.13硝酸盐氮标准使用液 : $(\text{NO}_3\text{-N}) = 10.0\text{mg/L}$

量取10.0ml硝酸盐氮标准使用液 (4.3.12) 于100ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。用时现配。

4.3.14硝酸盐氮标准使用液 : $(\text{NO}_3\text{-N}) = 6.0\text{mg/L}$

量取6.0ml标准使用液 (4.3.12) 于100ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。用时现配。

4.3.15亚硝酸盐氮标准贮备液 : $(\text{NO}_2\text{-N}) = 1000\text{mg/L}$

同4.2.5。

4.3.16亚硝酸盐氮标准中间液 : $(\text{NO}_2\text{-N}) = 100\text{mg/L}$

同4.2.6。

4.3.17亚硝酸盐氮标准使用液 : $(\text{NO}_2\text{-N}) = 6.0\text{mg/L}$

量取6.0ml亚硝酸盐氮标准中间液 (4.3.16) 于100ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。用时现配。

4.3.18氨水溶液 : (1+3)。

4.3.19氯化铵缓冲溶液贮备液 : $(\text{NH}_4\text{Cl}) = 100\text{g/L}$

将100g氯化铵 (4.3.7) 溶于1000ml容量瓶中, 加入约800ml水, 用氨水溶液 (4.3.18) 调节pH值为8.7~8.8, 用水定容, 混匀。

4.3.20氯化铵缓冲溶液使用液 : $(\text{NH}_4\text{Cl}) = 10\text{g/L}$

量取100ml氯化铵缓冲溶液贮备液 (4.3.19) 于1000ml容量瓶中, 用水定容, 混匀。

4.3.21磺胺溶液

同4.2.8。

4.3.22 盐酸N-(1-萘基)-乙二胺溶液

同4.2.9。

4.3.23 显色剂

同4.2.10。

5 仪器和设备

5.1 分光光度计: 具10mm比色皿。

5.2 pH计: 配有玻璃电极和参比电极。

5.3 恒温水浴振荡器: 振荡频率可达40次/分钟。

5.4 还原柱: 用于将硝酸盐氮还原为亚硝酸盐氮, 具体制备方法见附录C。

5.5 离心机: 转速可达3000r/min, 具100ml聚乙烯离心管。

5.6 天平: 精度为0.001g。

5.7 聚乙烯瓶: 500ml, 具螺旋盖。或采用既不吸收也不向溶液中释放所测组分的其他容器。

5.8 具塞比色管: 20ml、50ml、100ml。

5.9 样品筛: 5mm。

5.10 一般实验室常用仪器和设备。

6 样品

6.1 样品的采集

按照HJ/T 166的相关规定采集样品。

6.2 样品的保存

样品采集后应于4℃下运输和保存, 并在3日内分析完毕。否则, 应于-20℃ (深度冷冻) 下保存, 样品中硝酸盐氮和氨氮可以保存数周。

当测定深度冷冻的硝酸盐氮和氨氮含量时, 应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时, 需在4h内完成样品解冻、匀质化和提取; 如果在4℃下解冻, 解冻时间不应超过48h。

注1: 为了缩短样品的解冻时间, 应在样品被冷冻前, 将其敲碎成小颗粒状。

6.3 试样的制备

将采集后的土壤样品去除杂物, 手工或仪器混匀, 过样品筛。在进行手工混合时应戴橡胶手套。过筛后样品分成两份, 一份用于测定干物质含量, 测定方法参见HJ 613; 另一份用于测定待测组分含量。

6.4 试料的制备

称取40.0g试样(6.3), 放入500ml聚乙烯瓶中, 加入200ml氯化钾溶液(4.1.7), 在 20 ± 2 ℃的恒温水浴振荡器中震荡提取1h。转移约60ml提取液于100ml聚乙烯离心管中, 在3000r/min的条件下离心分离10min。然后将约50ml上清液转

移至100ml比色管中, 制得试料, 待测。

注2: 提取液也可以在4℃下, 以静置4h的方式代替离心分离, 制得试料。

6.5空白试料的制备

加入200ml氯化钾溶液于500ml聚乙烯瓶中, 按照与试料的制备(6.4)相同步骤制备空白试料。

注3: 试料需要在一天之内分析完毕, 否则应在4℃下保存, 保存时间不超过一周。

7分析步骤

7.1氨氮

7.1.1校准

分别量取0、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、3.50ml氯化铵标准使用液(4.1.9)于一组100ml具塞比色管中, 加水至10.0ml, 制备标准系列。氨氮含量分别为0、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、35.0 μg。

向标准系列中加入40ml硝普酸钠-苯酚显色剂(4.1.13), 充分混合, 静置15min。然后分别加入1.00ml二氯异氰尿酸钠显色剂(4.1.14), 充分混合, 在15~35℃条件下至少静置5h。于630nm波长处, 以水为参比, 测量吸光度。以扣除零浓度的校正吸光度为纵坐标, 氨氮含量(μg)为横坐标, 绘制校准曲线。

7.1.2测定

量取10.0ml试料(6.4)至100ml具塞比色管中, 按照校准曲线(7.1.1)比色步骤测量吸光度。

注4: 当试料中氨氮浓度超过校准曲线的最高点时, 应用氯化钾溶液(4.1.7)稀释试料, 重新测定。

7.1.3空白试验

量取10.0ml空白试料(6.5)至100ml具塞比色管中, 按照校准曲线(7.1.1)比色步骤测量吸光度。

7.2亚硝酸盐氮

7.2.1校准

分别量取0、1.00、5.00ml亚硝酸盐氮标准使用液(4.2.7)和1.00、3.00、6.00ml亚硝酸盐氮标准使用液(4.2.6)于一组100ml容量瓶, 加水稀释至标线, 混匀, 制备标准系列, 亚硝酸盐氮含量分别为0、10.0、50.0、100、300、600 μg。

分别量取1.00ml上述标准系列于一组25ml具塞比色管中, 加入20ml水, 摇匀。向每个比色管中加入0.20ml显色剂(4.2.10), 充分混合, 静置60min至90min, 在室温下显色。

于543nm波长处, 以水为参比, 测量吸光度。以扣除零浓度的校正吸光度为纵坐标, 亚硝酸盐氮含量(μg)为横坐标, 绘制校准曲线。

7.2.2测定

量取1.00ml试料(6.4)至25ml比色管中, 按照校准曲线(7.2.1)比色步骤测量吸光度。

注5: 当试料中的亚硝酸盐氮含量超过校准曲线的最高点时, 应用氯化钾溶液(4.1.7)稀释试料, 重新测定。

7.2.3空白试验

量取1.00ml空白试料(6.5)至25ml比色管中,按照校准曲线(7.2.1)比色步骤测量吸光度。

7.3硝酸盐氮

7.3.1还原柱使用前的准备

打开活塞,让氯化铵缓冲溶液全部流出还原柱。必要时,用水清洗掉表面所形成的盐。

再分别用20ml氯化铵缓冲溶液使用液(4.3.20)、20ml氯化铵缓冲溶液贮备液(4.3.19)和20ml氯化铵缓冲溶液使用液(4.3.20)滤过还原柱,待用。

7.3.2校准

分别量取0、1.00、5.00ml硝酸盐氮标准使用液(4.3.13)和1.00、3.00、6.00ml硝酸盐氮标准使用液(4.3.12)于一组100ml容量瓶中,用水稀释至标线,混匀,制备标准系列,硝酸盐氮含量分别为0、10.0、50.0、100、300、600 μg 。

关闭活塞,分别量取1.00ml校准系列于还原柱中。向还原柱中加入10ml氯化铵缓冲溶液使用液(4.3.20),然后打开活塞,以1ml/min的流速通过还原柱,用50ml具塞比色管收集洗脱液。当液面达到顶部棉花时再加入20ml氯化铵缓冲溶液使用液(4.3.20),收集所有流出液,移开比色管。最后用10ml氯化铵缓冲溶液使用液(4.3.20)清洗还原柱。

向上述比色管中加入0.20ml显色剂(4.3.23),充分混合,在室温下静置60min至90min。

于543nm波长处,以水为参比,测量吸光度。以扣除零浓度的校正吸光度为纵坐标,硝酸盐氮含量(μg)为横坐标,绘制校准曲线。

7.3.3测定

量取1.00ml试料(6.4)至还原柱中,按照校准曲线(7.3.2)步骤测量吸光度。

注:当试料中硝酸盐氮和亚硝酸盐氮的总量超过校准曲线的最高点时,应用氯化钾溶液(4.1.7)稀释试料,重新测定。

7.3.4空白试验

量取1.00ml空白试料(6.5)至还原柱中,按照校准曲线(7.3.2)步骤测量吸光度。

8结果计算与表示

8.1结果计算

8.1.1氨氮

样品中的氨氮含量 ω (mg/kg), 按照公式 (1) 进行计算。

$$\omega = \frac{m_1 - m_0}{V} \cdot f \cdot R \quad (1)$$

ω ——样品中氨氮的含量, mg/kg;

m_1 ——从校准曲线上查得的试料中氨氮的含量, μg ;

m_0 ——从校准曲线上查得的空白试料中氨氮的含量, μg ;

V ——测定时的试料体积, 10.0 ml;

f ——试料的稀释倍数;

R ——试样体积(包括提取液体积与土壤中水分的体积)与干土的比例系数, ml/g;

按照公式 (2) 进行计算。

$$R = \frac{[V_{ES} + m_s \cdot (1 - w_{dm}) / d_{H_2O}]}{m_s \cdot w_{dm}} \quad (2)$$

V_{ES} ——提取液的体积, 200ml;

m_s ——试样量, 40.0g;

d_{H_2O} ——水的密度, 1.0g/ml;

w_{dm} ——土壤中的干物质含量, %。

8.1.2 亚硝酸盐氮

样品中亚硝酸盐氮含量 ω (mg/kg), 按照公式 (3) 进行计算。

$$\omega = \frac{m_1 - m_0}{V} \cdot f \cdot R \quad (3)$$

ω ——样品中亚硝酸盐氮的含量, mg/kg;

m_1 ——从校准曲线上查得的试料中亚硝酸盐氮的含量, μg ;

m_0 ——从校准曲线上查得的空白试料中亚硝酸盐氮的含量, μg ;

V ——测定时的试料体积, 1.00 ml;

f ——试料的稀释倍数;

R ——试样体积(包括提取液体积与土壤中水分的体积)与干土的比例系数, ml/g;

按照公式 (2) 进行计算。

8.1.3 硝酸盐氮与亚硝酸盐氮总量

样品中硝酸盐氮与亚硝酸盐氮总量的含量 ω (mg/kg), 按照公式 (4) 进行计算。

$$\omega = \frac{m_1 - m_0}{V} \cdot f \cdot R \quad (4)$$

ω ——样品中硝酸盐氮与亚硝酸盐氮总量的含量, mg/kg;

m_1 ——从校准曲线上查得的试料中硝酸盐氮与亚硝酸盐氮总量的含量, μg ;

m_0 ——从校准曲线上查得的空白试料中硝酸盐氮与亚硝酸盐氮总量的含量, μg ;

V ——测定时的试料体积, 1.00 ml;

f ——试料的稀释倍数;

R ——试样体积(包括提取液体积与土壤中水分的体积)与干土的比例系数, ml/g;

按照公式 (2) 进行计算。

8.1.4 硝酸盐氮

样品中硝酸盐氮含量 $\omega_{\text{硝酸盐氮}}$ (mg/kg), 按照公式 (5) 进行计算:

$$\omega_{\text{硝酸盐氮}} = \omega_{\text{硝酸盐氮与亚硝酸盐氮总量}} - \omega_{\text{亚硝酸盐氮}} \quad (5)$$

8.2 结果表示

当测定结果小于1mg/kg时, 保留两位小数; 当测定结果大于等于1mg/kg时, 保留三位有效数字。

9 精密度和准确度

9.1 氨氮

实验室内对氨氮含量分别为0.73mg/kg、1.59mg/kg、5.69mg/kg的土壤样品进行了测定, 相对标准偏差分别为8.41%、4.77%、4.63%。

实验室内对氨氮含量为1.62mg/kg的土壤样品进行了加标分析测定, 加标量分别为40 μg和100 μg; 对氨氮含量为5.76 mg/kg的土壤样品进行了加标分析测定, 加标量为200 μg, 实际样品加标回收率为80.9%~105%。

9.2 亚硝酸盐氮

实验室内对亚硝酸盐氮含量分别为2.46mg/kg、4.09mg/kg、8.64mg/kg的土壤样品进行了测定, 相对标准偏差分别为5.72%、1.66%、1.25%。

实验室内对亚硝酸盐氮含量为2.46mg/kg的实际土壤样品进行了加标分析测定, 加标量为400 μg; 对亚硝酸盐氮含量为4.07mg/kg的实际土壤样品进行了加标分析测定, 加标量分别为100 μg和360 μg; 对亚硝酸盐氮含量为9.04mg/kg的实际土壤样品进行了加标分析测定, 加标量分别为200 μg和600 μg, 实际样品加标回收率为70.8%~91.7%。

9.3 硝酸盐氮

实验室内对硝酸盐氮含量分别为1.84mg/kg、16.2mg/kg、21.9mg/kg的土壤样品进行了测定, 相对标准偏差分别为6.07%、3.26%、4.18%。

实验室内对硝酸盐氮含量为1.85mg/kg的土壤样品进行了加标分析测定, 加标量分别为40 μg、80 μg; 对硝酸盐氮含量为16.9mg/kg的土壤样品进行了加标分析测定, 加标量分别为300 μg、500 μg, 对硝酸盐氮含量为21.5mg/kg的土壤样品进行了加标分析测定, 加标量分别为400 μg、600 μg, 实际样品加标回收率为81%~114%。

10 质量保证和质量控制

10.1 每批样品至少做一个空白试验, 测试结果应低于方法检出限。

10.2 每批样品应测定10%的平行样品。平行双样测定结果>10.0mg/kg时, 相对偏差应在10%以内, 平行双样测定结果10.0mg/kg时, 相对偏差应在20%以内。

10.3 每批样品应测定10%的加标样品。氨氮加标回收率应在80%~120%之间; 亚硝酸盐氮加标回收率应在70%~120%之间; 硝酸盐氮加标回收率应在80%~120%之间。

10.4 校准曲线相关系数应 ≥ 0.999。

10.5 每批样品应分析一个校准曲线的中间点浓度标准溶液, 其测定结果与校准曲线该点浓度的相对偏差应 ≤ 10%。否则, 需重新绘制校准曲线。

10.6 硝酸盐氮还原效率

量取1.00ml硝酸盐氮标准使用液 (4.3.14) 和亚硝酸盐氮标准使用液 (4.3.17), 分别按照7.3.2步骤进行转化并测定吸光度。测定结果的相对偏差应在5%以内, 否则, 应对还原柱中的镉粉进行重新处理。

原文地址: <http://www.china-nengyuan.com/tech/97265.html>