

森林土壤标准物质的研究

一样品的采集、制备与均匀度、稳定性检验*

杨光滢 张萍 卞祖娴

(中国林业科学研究院林业研究所)

摘要 本文报道了按照森林土壤标准物质要求采集的二个土壤样品(碱性土-石灰性褐土;酸性土-黄红壤)和一个植物样品(杉木叶)的制备过程。粒径2 mm的土壤样品采用Y型混样;0.149 mm的土壤和0.177 mm的植物样品采用高铝瓷球磨机制备。土壤样品用高温灭活,植物样品用 ^{60}Co 辐射灭活。在二年测定标准样品稳定性同时进行了标准样品中微生物类群和数量的分析。土壤、植物标准样品的均匀性和稳定性采用数理统计方法检验,其结果均达到标准物质要求。

关键词 森林土壤标准物质;标准样品制备;均匀度、稳定性检验;微生物类群和数量

标准物质是标准仪器、测量方法和检验分析测试结果可靠的基准物质。对生产实践起着极其重要的作用。标准样品自本世纪初问世以来,已经广泛应用到工业生产和科学研究等各个领域^[1]。目前能见到的土壤标准物质只有全量元素的定值,而农林业更需要的有效态营养元素的定值尚无先例。本试验为配合《森林土壤分析方法》(国家标准)实施而研制的森林土壤标准样品供林业生产实践和科学研究的需要。

一、样品采集

采样前进行充分的调查和分析,力求使采集的样品具有代表性^[2]。

(一) 土壤样品采集

土壤样品采集应考虑以下几点:

1. 样品采集个数应满足不同土壤类型不同分析方法的要求^[3]。例如:酸性土与碱性土的速效磷测定方法就不相同^[4]。因此至少采集二种土样。
2. 应取各营养元素含量范围的中间值土样为宜。含量过高或过低都会影响定值和使用。
3. 取样点选在缓坡地带。使采集的样品在该立地条件下成土作用相对稳定,尽量避开人为活动地区(翻耕、施肥地等)。

本文于1990年5月20日收到。

* 本试验在张万儒研究员指导下进行。标准物质制备得到北京市环境监测中心全浩,地矿部物化探研究所鄢明才、王春书,中国农科院土肥所朱海舟等同志热情帮助,微生物分析由中国林科院林研所戴莲韻同志负责,谨此表示感谢。

4. 在B层(或A层下部)取样。采样层要求土体均一, 绝对避免混入采样层以外的杂物, 这是本试验均匀度能否符合要求的关键之一。

石灰性褐土采自北京西郊大召山山麓地带, 中国林业科学研究院内白皮松林下。地处暖温带半湿润气候, 植被以落叶松栎类林为主, pH 7~8。黄红壤采自江西分宜县中国林科院大岗山实验局年珠林场庵子里。地处井岗山支脉大岗山山地, 海拔 300 m, 属中亚热带湿润气候, 雨量充沛, 干湿季明显, 天然植被为常绿阔叶林, pH 4~5。

(二) 植物样品采集

于9月底在江西分宜县中国林业科学院大岗山实验局年珠林场, 杉木人工林内采集杉木叶 (*Cunninghamia lanceolata*)。杉木长势良好, 在树冠中上部取健康的叶子。

二、试验方法及标准样品检验

(一) 土壤样品制备及均匀度检验

土壤样品风干后, 去杂(石块、树根等)、过尼龙筛。根据分析项目的不同, 制成 0.149mm 和 2 mm 粒径的土壤样品。

1. 粒径 2 mm 土壤标准样品的制备和均匀度检验 过筛后土壤样品在鼓风烘箱内 120℃ 下烘 20 h, 160℃ 烘 2 h 干燥、灭活。每种土壤按 40 kg 左右分成若干等份(样品太重使混样困难, 太少又会增加工作量), 按 Y 型人工混样 40 次, 测定其均匀度。将每份样品分成若干小等份, 取每份样品中的一小等份, 用上述混样方法再混 40 次, 再一次测定每份样品的均匀度。每份样品梅花布点, 取 5 个样, 用布奇全自动定 N 仪测定速效 N。直至全部速效 N 值符合均匀度要求。用棕色有双层盖的玻璃瓶包装, 石蜡封口。

2. 粒径 0.149 mm 土壤标准样品制备和均匀度检验 0.149 mm 粒径土壤标准样品, 采用高铝瓷球磨机制作^[2]。样品在加工前充分干燥, 反复锥堆混样, 以提高样品均匀度和加工效能。土壤样品与球石的比例为 1:0.6, 球磨时间二次共 8 h 左右。第一次球磨(即粗混)分二批进行。每批装二桶, 第二次球磨(即细磨)取第一次球磨每批中的一桶, 交叉进样。加工流程见图 1。均匀度检验将分装的四桶样品每桶随机取 4 小瓶, 每小瓶取两份, 共 32 个样本。用布奇全自动定 N 仪测定全 N, 烘箱法测定全 C。

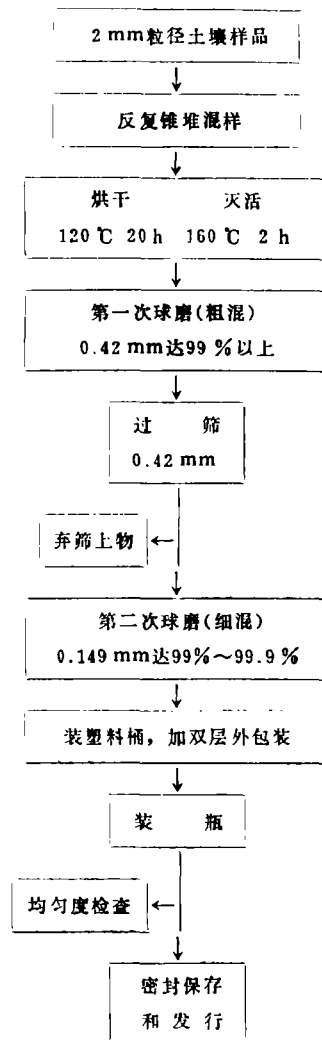


图 1 土壤样品制备流程

(二) 植物样品制备和均匀度检验

擦去新鲜杉木叶尘土, 立即进行杀青处理。把样品放入105℃鼓风烘箱烘20 min, 然后摊开风干或用60℃烘12 h, 全部粉碎后过1 mm筛, 用高铝瓷球磨机制成0.177 mm规格。加工流程同图1。均匀度检验同0.149 mm粒径的土壤标准样品。

植物样品与土壤样品制备过程中有三点不同: ①烘干温度为105℃、24 h, ⁶⁰Co照射灭活(相当于土壤120℃烘干20 h, 160℃灭活2 h); ②第一次球磨后过筛(0.25 mm), 当75%以上植物样品通过时, 筛上部分并入第二批球磨粗混。细混(第二次球磨)要求有98%的样品达到0.177 mm; ③植物样品与球石比例为1:2, 球磨时间二次共40 h左右。

植物标准样品包装瓶盖用纸垫衬里, 外加热缩膜和石蜡。样品用⁶⁰Co照射灭活, 剂量为1 Gy(预先做了不同照射剂量的试验)。

(三) 土壤植物标准样品稳定性检验

土壤、植物标准样品制备完毕, 定期进行微生物数量和类群的常规分析^[6], 测定样品中细菌、真菌、放线菌数。同时分析样品稳定性(每种样品随机取5瓶, 每瓶取两份样。粒径2 mm的土壤样品测定水解N, 粒径0.149 mm的土壤和粒径0.177 mm的植物样品测定全N)。

三、结果与分析

(一) 样品均匀度检验是标准样品制备中最重要的一环, 也是标准样品必须具备的基本条件之一。固态粉末样品达不到绝对均匀, 但起码也要具备一定的均匀性, 即取样量最小的分析项目达到均匀。

1. 表1表明2 mm粒径的样品混样前是不均匀的, 相对标准偏差CV%=5.47。大量数据说明混第一遍(即第一个40次)达不到均匀度要求, 相对标准偏差明显下降。混第二遍时一般都能达到均匀度要求。试验证明采用Y型人工混样效果是好的, 样品达到均匀。

表1 黄壤样品(2mm粒径)均匀度检验(mg/kg N)

	测 定 值								算术平均值	标准偏差	相对标准偏差
混 样 前	180	198	189	205	176	223	195	182	196.7	10.76	5.47
	199	187	187	211	187	212	207	199			
混 一 遍	188	203	187	204	206	215	219	200	202.1	5.56	2.75
	198	204	203	210	199	201	201	196			
混 二 遍	x_{ij}	204	204	202	201	206	200	202	202.1	2.18	1.08
		200	201	203	201	201	209	200			
		202	209	199	201	201	200	198			
		203	206	201	198	201	202	204			
		205	201	201	199	198	203	203			
	\bar{x}_i	202.7	204.2	201.1	200.0	201.2	204.3	201.4			
$F_{0.05}(6,28)$ 实测值1.94 < $F_{0.05}(6,28)$ 临界值2.44 $S_1 = 1.317 \ 15E - 08$ $Q_2/V_2 = 7.014 \ 29E - 08$											

2. 粒径 2 mm 的土壤样品均匀度检验采用较简单的方差分析。在土壤样品有效态养分测定诸多项目中, 取样量最小的项目是速效氮, 它在土壤中的稳定性也相对地较差, 因此速效氮检验若能符合均匀度要求, 也就认为达到样品均匀了。表 1 第 3 栏是黄红壤均匀度检验的结果。所得 F 值小于 5% 时的临界值, 表明组内多次测定的平均值和组间各次测定的平均值之间无明显差别, 代表样品不均匀误差的 S_1 小于测定误差 Q_2/V_2 。以上说明样品均匀度符合要求。

3. 粒径 0.149 mm 的土壤样品和 0.177 mm 的植物样品用四层套合方差分析检验均匀度^[2]。四层套合的 F 检验在球磨、桶和小瓶之间比较, 所得的 F 值小于 $F_{0.05}$ 的临界值, 表明球磨、桶和小瓶的样本可视为同一总体, 最小包装瓶的代表性是可靠的, 样品是均匀的。表 2 是一实例。

表 2 石灰性褐土样品(0.149mm粒径)均匀度检验(mg/kg N)

球 磨	第 一 批															
桶 号	01							02								
小 瓶 号	010004	010022	010134	010256	020010	020058	020177	020269	020010	020058	020177	020269	020010	020058	020177	020269
x_{ijkm} ①	718	709	709	705	717	703	717	703	713	719	717	705	717	721	718	715
球 磨	第 二 批															
桶 号	03							04								
小 瓶 号	030017	030066	030182	030243	040009	040071	040165	040238	040009	040071	040165	040238	040009	040071	040165	040238
x_{ijkm}	703	703	700	705	709	709	718	715	717	711	714	712	717	719	711	709
\bar{x} ② = 711.7				端值 = 700~721				S ③ = 5.91				CV ④ % = 0.83				
方	和	自由度⑤	均 方	$F_{0.05}$ 实测值	$F_{0.05}$ 临界值											
球 磨 间	$SS_1 = \frac{\sum (\sum x_{ijkm})^2}{bcd} - \frac{(\sum x_{ijkm})^2}{abcd} = 40$	$a-1$	$V_1 = 40$	$F_1 = \frac{V_1}{V_2} = 0.331$	$F_{(1,2)} 18.5$											
桶 间	$SS_2 = \frac{\sum (\sum x_{ijkm})^2}{cd} - \frac{\sum (\sum x_{ijkm})^2}{bcd} = 242$	$a(b-1)$	$V_2 = 121$	$F_2 = \frac{V_2}{V_3} = 3.367$	$F_{(2,12)} 3.89$											
小 瓶 间	$SS_3 = \frac{\sum (\sum x_{ijkm})^2}{d} - \frac{\sum (\sum x_{ijkm})^2}{cd} = 431.23$	$ab(c-1)$	$V_3 = 35.94$	$F_3 = \frac{V_3}{V_4} = 1.560$	$F_{(12,16)} 2.42$											
小 瓶 内 (分析间)	$SS_4 = \frac{\sum x^2_{ijkm}}{1} - \frac{\sum (\sum x_{ijkm})^2}{d} = 368.47$	$abc(d-1)$	$V_4 = 23.03$	$F_4 = \frac{V_4}{V_4} = 0.576$	$F_{(1,16)} 4.49$											

$$t \text{ 检验: } \textcircled{6} (\alpha = 0.05) \quad t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2 + S_2^2}{n}}} = 0.927 < t_{0.05}(f = 30) = 2.042$$

① x_{ijkm} i 为 i 批球磨、 j 桶、 k 小瓶、 m 次小瓶内重复分析结果; ② \bar{x} 为算术平均值; ③ S 为标准偏差;
④ CV % 为相对标准偏差; ⑤ a 为球磨加工次数, b 为每批球磨分装桶数, c 为每桶抽取小瓶数, d 为小瓶内重复分析次数, 其中: $a=2, b=2, c=4, d=2$; ⑥ \bar{x}_1, \bar{x}_2 和 S_1, S_2 分别为两次球磨各自抽取 n 个样的平均数和标准偏差。

(二) 样品的稳定性是衡量标准样品优劣的重要特性之一, 也是标准样品必须具备的基

本条件。森林土壤微生物具有强烈的生物化学活性,它们是各种物质转化过程的积极参预者,是影响标准样品稳定性的主要因子之一。

1. 除 0.5 Gy 照射的植物样品外其余都没有微生物。说明 1 Gy ^{60}Co 照射已能满足样品灭活要求的剂量。

2. 森林土壤标准样品微生物数量和类群分析结果(表 3),对照样品(未处理的风干土壤)有一定数量的细菌和真菌;石灰性褐土中细菌数量占优势;黄红壤真菌数量占优势;灭活处理的标准样品除粒径 2 mm 的石灰性褐土仍有少量细菌外,其余都没有细菌、真菌、放线菌,而石灰性褐土中细菌含量有逐年减少的趋势。

表 3 森林土壤标准样品微生物数量和主要类群分析结果 (单位: 个数/g)

样 品		1988年4月分析			1989年3月分析			1990年4月分析		
土 壤	粒 径 (mm)	细菌数	真菌数	放线菌数	细菌数	真菌数	放线菌数	细菌数	真菌数	放线菌数
石灰性 褐 土	0.149	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	5.1×10^5 4.6×10^5	0	0	13.3×10^5 4.3×10^5	0	0	3×10^5 0	0	0
黄 红 壤	0.149	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
对 照 (粒径2mm)	石灰性褐土	—	—	—	35.5×10^5	0	0	25×10^5	0	0
	黄 红 壤	—	—	—	0	15×10^5	0	3×10^5	8.6×10^5	0

3. 在标准样品稳定性分析中,除分析本身的系统误差外,样品可能发生的变化也会带来误差,因此在每次分析时尽可能控制各种条件,选择精密度高的方法,减少分析结果之间的差异。标准样品的稳定性采用 t 检验。表 2 中 $|\bar{x}_i - \bar{x}| / \frac{s}{\sqrt{n}}$ 都小于 $t_{0.05}(53) = 2.00$ 。表 4 表明 2 年的标准样品未发生显著性变化^[4]。

表 4 石灰性褐土样品(2 mm 粒径)稳定性检验

分析时间 (年·月)	测 定 值 (mg/kg N)										\bar{x}_i	$ \bar{x}_i - \bar{x} $
1988·4	50.86	57.49	58.97	61.92	59.71	54.65	64.87	59.71	64.13	56.76	58.91	4.72
1989·3	54.55	52.33	56.44	57.91	60.44	53.07	55.60	61.18	65.08	66.59	58.32	4.13
1990·4	56.59	64.08	63.50	57.51	56.00	53.07	61.81	63.39	62.65	64.86	60.35	6.16

注: 标准值 $\bar{x} = 54.2$; 标准偏差 $S = 8.5$; $n = 9$; $t_{0.05}(8) = 2.31$; $t_{0.05}(8) \frac{S}{\sqrt{n}} = 6.53$

四、结语与讨论

1. 按《森林土壤分析方法》(国家标准)规定土壤有效态养分测定要用 2 mm 粒径的土样,制备 2 mm 粒径的森林土壤标准样品必须达到均匀度检验的要求。本文采用 Y 型混样原理进行人工混样。通过大量试验证明这个方法是可行的。但是工作量大,同时需要注意几个问题;

① 采集的土壤层用眼直观必须均一, 采集时操作仔细, 防止表层土混入。② 制样的房间和用具要绝对干净, 样品制备分装的全过程, 切忌进入外来物质。工作人员要保持洁净, 防止污染。③ 制样宜在干燥季节, 以防样品吸水影响稳定性。④ 混样在密闭容器里进行, 或者烘样前混第一遍, 烘样后混第二遍, 混完立即装桶, 尽量减少与外界接触。

2. 按《国家计量技术规范一级标准物质》规定制备标准样品稳定期至少一年, 本试验已经达到。为了保持样品的相对稳定性, 国内外多数采用⁶⁰Co照射^[1], 而且剂量较大。试验表明在缺乏钴源和经费有限的情况下, 土壤标准样品采用高温灭活(160℃、2h)代替⁶⁰Co照射, 植物标准样品采用常规⁶⁰Co照射剂量的一半进行灭活是可行的。二年来的微生物数量和类群分析说明, 只有石灰性褐土仍有少量的芽孢存在, 但并不影响其营养元素的稳定性。与森林土壤标准样品稳定性有关的因素除样品灭活外, 样品的干燥和保存条件也至关重要, 因此本试验多次测定土壤标准样品的水分含量都在1%以下, 室内避光, 用去湿机保持干湿温度差大于4℃, 经2年多观察标准样品未发生显著性变化。

参 考 文 献

- [1] 中国计量科学研究院, 1978, 国外化学计量概况, 计量出版社。
- [2] 地球化学标准参考样研究组, 1986, 地球化学标准参考样的研制与分析方法 GSD1-8, 地质出版社。
- [3] 国家计量局, 1987, 中华人民共和国国家计量技术规范一、二的一级标准物质, JJG1006-86, 计量出版社。
- [4] 中国林业科学研究院林业研究所森林土壤研究室, 1987, 森林土壤分析方法(国家标准), 标准出版社。
- [5] 中国科学院林业土壤研究所微生物室, 1960, 土壤微生物分析手册, 科学出版社。
- [6] 全浩, 1984, 中国大米粉环境标准物质的研制及其技术特性, 中国环境科学, 4(5)。

STUDIES ON THE STANDARD MATERIALS OF SOIL

— THE COLLECTION, PREPARATION AND TEST OF HOMOGENEITY AND STABILITY OF SAMPLES

Yang Guangying Zhang Ping Bian Zuxian

(The Research Institute of Forestry CAF)

Abstract The present paper deals with the process of preparing the standard material of forest soil. 3 samples should be used in the research: calcareous cinnamon alkaline soil, yellow-red acid earth and a botanical sample — leaf of chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*). 2 mm size soil samples were stirred evenly by Y-shaped method, 0.149 mm size soil samples and 0.177 mm botanical samples were prepared by a high alumina porcelain ball mill. High temperature was used to kill the microorganisms in the soil

sample; ^{60}Co radiation was used to kill the microorganisms in the botanical sample. The groups and quantities of microorganisms in the standard samples were analysed, when the testing of stability of the samples was conducted for two years. Homogeneity and stability of standard samples was tested by F test and analysis of variance. The result of the homogeneity and stability of test has met the demand of standard samples. The method of 2 mm size soil particles used for available nutrients determination was reported for the first time in China.

Key words standard material of forest soil; preparation of standard sample; test of homogeneity and stability; group and quantity of microorganisms

《中国农业百科全书·林业》卷评介

以著名林学家、中国科学院学部委员吴中伦主编的《中国农业百科全书·林业》卷是一部大型工具书。由于编著该书的指导思想明确、组织学术造诣较深的科技人员撰稿,编辑人员认真负责以及印刷机构的精益求精,终于使一本学科体系完整的高质量图书问世,受到了林业部门科技人员和其他各界人士的热烈欢迎。可以预料,《林业》卷的出版对我国的林业建设将起到推动作用,对世界林业的发展也将产生影响。《林业》卷的如下特点十分鲜明:

“全”。《林业》卷尽量选收了林业科学各分支学科的条目,其数量之多是某些辞典、手册不可比拟的。鉴于森林培育是我国林业建设中的头等大事,《林业》卷在强调内容全面的同时,也注意重点选收造林、营林、护林方面的条目,增大其所占比重。

“新”。理论和技术的先进性是百科全书的生命线。《林业》卷所介绍的内容反映了80年代国内外林业科学发展水平,使各层次的读者都会感到耳目一新,受到启发。

“用”。林业学科作为一门应用学科,理论联系实际是其精髓所在。《林业》卷各条目叙述有关方法、技术大多力求详尽、具体,便于读者实际应用。当前世界各国都把提高经营的集约强度作为一项战略性措施,《林业》卷把握住了这个趋势,准确地阐述了集约经营思想和具体措施。

“美”。《林业》卷版面排列艺术,图版、插图精美,文字简练、流畅,是装帧相当美观的一本林业科技图书。

(北京林业大学教授 王九龄)