



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX/ISO XXXX/ISO 19822:2018

肥料和土壤调理剂 肥料中腐植酸和疏水性 黄腐酸含量的测定

Fertilizers and soil conditioners — Determination of humic and hydrophobic fulvic
acids concentrations in fertilizer materials

(ISO 19822:2018 IDT)

(征求意见稿)

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件等同采用国际标准ISO 19822:2018《肥料和土壤调理剂 肥料中腐植酸和疏水性黄腐酸含量的测定》。

本文件由中国石油和化学工业联合会提出。

本文件由全国肥料和土壤调理剂标准化技术委员会（SAC/TC 105）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

肥料和土壤调理剂 肥料中腐植酸和疏水性黄腐酸含量的测定

1 范围

本文件规定了腐植酸和疏水性黄腐酸的测定方法。

本文件适用于商业肥料、土壤调理剂和地质沉积物的固体和液体物质中腐植酸和疏水性黄腐酸含量的测定。

2 规范性引用文件

本文件中没有规范性的参考文献。

3 术语和定义

ISO 8157中的术语和定义均适用于本文件。

ISO和IEC用于标准化的术语数据库网址如下：

- ISO在线浏览平台：<http://www.iso.org/obp>
- IEC电工词典：<http://www.electropedia.org/>

3.1

疏水性黄腐酸（疏水性富里酸） hydrophobic fulvic acids, HFA

硫元素（S）含量小于0.75%，可溶于碱性和酸性水溶液，且在pH=1的条件下能够被吸附在中等极性的聚合物吸附树脂上，该树脂是用于吸附具有特定黄腐酸分子量的双亲性化合物。

3.2

含黄腐酸（富里酸）组分 fulvic fraction

可溶于碱性和酸性水溶液的腐殖物质的碱提取组分。

3.3

腐植酸 humic acids, HA

不溶于强酸性溶液的碱提取腐殖物质，且该碱提取物会在pH=1的酸性溶液中沉淀。

3.4

腐殖物质 humic substance

一种天然有机物的主要有机成分，该天然有机物是在植物和微生物残骸腐烂和转化过程中，经过生物化学反应所形成的碳基物质的混合物。

3.5

木质素磺酸盐 lignosulfonates

从亚硫酸盐制浆中提取的无定形的，颜色由浅到深褐色的粉末或液体。木质素是三种芳香醇的磺化聚合物，三种芳香醇分别为松柏醇、对香豆醇和芥子醇，以松柏醇为主。

4 方法提要

4.1 该方法通过重量法测定与基质分离后的腐植酸和疏水性黄腐酸的无灰量。

4.2 腐植酸和疏水性黄腐酸的提取方法是利用强碱提取出碱溶性物质，在除去不溶性成分后，酸化碱性提取液，使腐植酸絮凝。

4.3 除去腐植酸后剩余液体的上清液即为含黄腐酸组分。含黄腐酸组分中可能含有疏水性黄腐酸(HFA)。使用甲基丙烯酸酯树脂分离该组分中的疏水性黄腐酸与非腐殖质化合物，从而测定含黄腐酸组分中疏水性黄腐酸的含量。根据参考文献，该疏水性树脂所吸附的物质为可溶性有机质中疏水酸组分。

5 警告

5.1 良好实验室规范

试验人员在处理强酸（盐酸）、强碱（氢氧化钠）时应当采取恰当的个人防护，如护目镜等，并遵守ISO/IEC 17025相关标准。

5.2 湿度控制

腐植酸和黄腐酸均为吸湿性物质，在进行干燥处理时应当防止吸潮。

5.3 木质磺酸盐

木质磺酸盐会损坏疏水性树脂。本方法无法区分疏水性黄腐酸和木质素磺酸盐，因此建议对来源不明的产品进行木质素磺酸盐的预筛选。具体步骤见附录A。

5.4 温度控制

由于在较高温度下腐植酸和黄腐酸会分解，因此干燥温度不应超过65 °C。

6 试剂

6.1 氢氧化钠溶液， $c(\text{NaOH}) = 0.1 \text{ mol/L}$ ：称取 99.99%的氢氧化钠 3.99 g 溶于水，定容至 1 L，摇匀。

6.2 氢氧化钠溶液， $c(\text{NaOH}) = 0.5 \text{ mol/L}$ ：称取 99.99%的氢氧化钠 19.99 g 溶于水，定容至 1 L，摇匀。

6.3 盐酸溶液， $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/L}$ ，将 12 mol/L 的盐酸与水 1:1 体积进行混合，摇匀。

6.4 盐酸溶液， $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$ ，吸取 12 mol/L 的盐酸 83.3 mL，定容至 1 L，摇匀。

6.5 盐酸溶液， $c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/L}$ ，取盐酸溶液（6.4）100 mL，定容至 1 L，摇匀。

6.6 氮气，纯度 99.9%。

6.7 甲基丙烯酸酯树脂, 40~60 目, 孔容约 0.79 mL/g, 平均孔径为 225 Å, 表面积 160 m²/g, 用于吸附相对分子质量在 150 000 以下的物质, 如 Supelite DAX-8 树脂, 或其他任何具有同等性质的树脂。

6.8 Amberlite IR-120 强阳离子型交换树脂, 氢型。

6.9 去离子水。

6.10 丙酮。

7 仪器设备

7.1 带防风罩的分析天平, 最大称样量 210 g, 示值 0.000 1 g。

7.2 烘箱, 温度能达到 120 °C, 精度为±3 °C。

7.3 离心机, 最小相对离心力 1 500×g, 相对离心力能达到 3 900×g。

7.4 4 mL 至 50 mL 或 250 mL 聚乙烯或高密度聚乙烯(HDPE)离心管, 或耐 600 °C 高温型离心管(例如:Kimble-Chase,编号 45212-50KIMAX)。

7.5 4 mL 至 100 mL 宽形坩埚(例如: Fisher Scientific,编号 FB-965-M)

7.6 旋转蒸发器, 容量 400 mL。

7.7 磁力搅拌器配 5 cm~7 cm 磁力搅拌子。

7.8 pH 计。

7.9 电导率仪, 配校准电导池常数约为 1 的探头。

7.10 分光光度计, 精度为±0.005 abs, 可在 350 nm 处测量。

7.11 蠕动泵, 最小流量为 1.2 mL/min。

7.12 马弗炉。

7.13 旋转式振动混合器。

7.14 以硅胶(或其他等效物)为干燥剂的干燥器。

7.15 锥形瓶, 1000 mL。

7.16 烧杯, 4 L。

7.17 量筒, 1000 mL。

7.18 玻璃层析柱 4 cm×25 cm, 配 DAX-8 树脂。

7.19 玻璃层析柱 5 cm×60 cm, 配 IR120 氢离子交换树脂。

7.20 陶瓷研钵及研杵。

7.21 筛网, 74 μm (# 200 US mesh)。

7.22 封口膜。

8 准备坩埚、烘干和称量样品

8.1 准备坩埚

8.1.1 若使用新坩埚，需使用丙酮清洗，置于105 °C的烘箱中烘干2 h，待用。

8.1.2 若使用已使用过的坩埚，需使用丙酮清洗，置于500 °C的马弗炉中灼烧2 h。将坩埚置于干燥器中冷却至室温。冷却后从干燥器中取出，称量并记录坩埚的质量，精确至0.000 1 g。

8.2 固体样品的干燥和称量

8.2.1 如果样品是固体状态，称取约5 g的样品进行粉碎并过75 μm筛，以确保样品均匀。

8.2.2 将约5 g的样品转移到坩埚中（8.1）。

8.2.3 将盛有样品的坩埚放入烘箱中，在 62 °C ±3 °C（不得超过65 °C）温度下烘干24 h。若样品在烘干过程中发生结块，用玻璃棒敲碎后继续烘干，烘干至恒重。干燥时间不超过24 h。

8.2.4 达到恒重后，将样品从烘箱中取出，立即放入干燥器中冷却。

注：腐植酸和黄腐酸都有吸湿性，在进行处理时一定要防止样品吸潮。

8.2.5 从已干燥的样品中称取试样约2.5 g，置于已恒重的坩埚（8.1）中，记录坩埚和试样总质量，精确至0.000 1 g。立即进行提取（9.1）或者将坩埚放入干燥器。

8.2.6 以坩埚和试样总质量（8.2.5）减去坩埚质量（8.1.2），即为试样干重。

8.3 液体样品的干燥和称量

8.3.1 对于液体样品，先在其原包装内摇晃1 min，使其均匀分散。称取约5 g样品于恒重后的坩埚中（8.1.2），精确至0.000 1 g。记录为液体试样质量。

对于疏水性黄腐酸含量低于1 %的样品，称取10 g样品进行测定。

8.3.2 按照8.2.2 至 8.2.6 烘干样品并称量试样质量。

9 提取步骤

9.1 固体和液体样品均按以下步骤进行提取。

将准备好的试样转移至1 L的锥形瓶中，放入磁力搅拌子。搅拌过程中不断加入 0.1 mol/L的NaOH溶液至1 L。将氮气充满锥形瓶，并用封口膜密封(或用类似材料密封锥形瓶)。将锥形瓶放置于搅器上进行搅拌（搅拌速率300 r/min到400 r/min）。液体样品搅拌1 h，固体样品搅拌16 h至18 h。

注：对于固体样品，可以适当在当天晚些时候执行这一步骤，以便固体样品可以搅拌过夜。

9.1.1 搅拌结束后，将锥形瓶从搅拌器上取下，将所有溶液转入适当的离心管中，用 3 900×g相对离心力离心30 min，从碱性提取液中分离出不溶物质。小心地将碱性提取液转移到放有磁力搅拌子的干净的1 L锥形瓶中。弃去不溶物。

9.1.2 向碱性提取液中逐滴加入6 mol/L的HCl溶液，并缓慢搅拌。调节碱性提取液的pH至1.0±0.1，以使腐植酸进行絮凝。

9.1.3 使用封口膜密封锥形瓶，搅拌1 h。1 h后，检查pH值是否为1.0±0.05，若pH高于1.05，加入6 mol/L的盐酸溶液将pH调至1.0±0.05；若pH值低于0.95，使用0.5 mol/L的NaOH溶液将pH调至1.0±0.05。继续搅拌酸化提取液，直至其pH在1.0±0.05稳定5 min。pH稳定后，不要让酸化提取物静置时间超过5 min。移除pH电极。

9.2 腐植酸的分离

9.2.1 pH稳定后立即从搅拌器上取下锥形瓶，用封口膜密封。将已调整pH的提取液静置4 h±5 min(不应超过4 h)。本阶段对于防止腐植酸和疏水性黄腐酸在溶液中发生进一步分配起着至关重要的作用。絮凝后的腐植酸将从溶液中沉淀。

9.2.2 立即将提取液装入已预称重的50 mL离心管，以3 900×g的相对离心力离心30 min，以分离絮凝的腐植酸。缓慢倾倒出上清液(含黄腐酸组分)，注意不要倒出任何絮凝的腐植酸。通常在不干扰已絮凝的腐植酸的情况下，可以倾倒出约500 mL的澄清提取液。如果要进行疏水性黄腐酸含量测定，将含黄腐酸组分(上清液)倒入干净的1 L锥形瓶中。(或者：使用高温离心管代替塑料离心管，可避免将沉淀的腐植酸转移至坩埚的步骤，以减少工作量，提高准确性。)

9.2.3 将含有絮凝腐植酸的离心管以1 500×g的相对离心力再次离心20 min~30 min，进一步将絮凝腐植酸从清液中分离出来。如果要进行疏水性黄腐酸含量测定，将此次倾倒出的上清液加入9.2.2中倾倒出的含黄腐酸组分上清液中。

9.2.4 如果使用高温离心管，将含有絮凝腐植酸的离心管放在62 °C ±3 °C的烘箱中。如果使用塑料或低温离心管，从离心管中刮取所有絮凝腐植酸到100 mL宽形坩埚中(8.1)。将絮凝的腐植酸刮出后，在离心管中加入少量去离子水，拧紧管盖，用力摇动，以便将所有絮凝腐植酸从管中取出，再将去离子水/絮凝的腐植酸混合物加入坩埚中。将高温离心管或坩埚置于烘箱中，在62 °C ±3 °C烘干至絮凝腐植酸恒重(通常需要过夜)。若干燥过程中发生结块，使用玻璃棒将凝块打散，注意避免从离心管中带出任何物质。根据腐植酸的来源的不同，干燥过程时长不同，最长可能需要24 h。

注：烘干时，高温离心管可竖直放置于50 mL烧杯内。

9.3 当絮凝的腐植酸干燥至恒重后，从烘箱中取出离心管或坩埚，立即放入干燥器中进行冷却。一旦在干燥器中冷却至室温，重新称量装有絮凝腐植酸的离心管或坩埚。需采取必要的预防措施以减少样品吸潮。干燥后絮凝腐植酸与离心管或坩埚的总质量减去离心管或坩埚的质量，即为干燥后絮凝腐植酸质量 m_1 。

10 灰分含量的测定

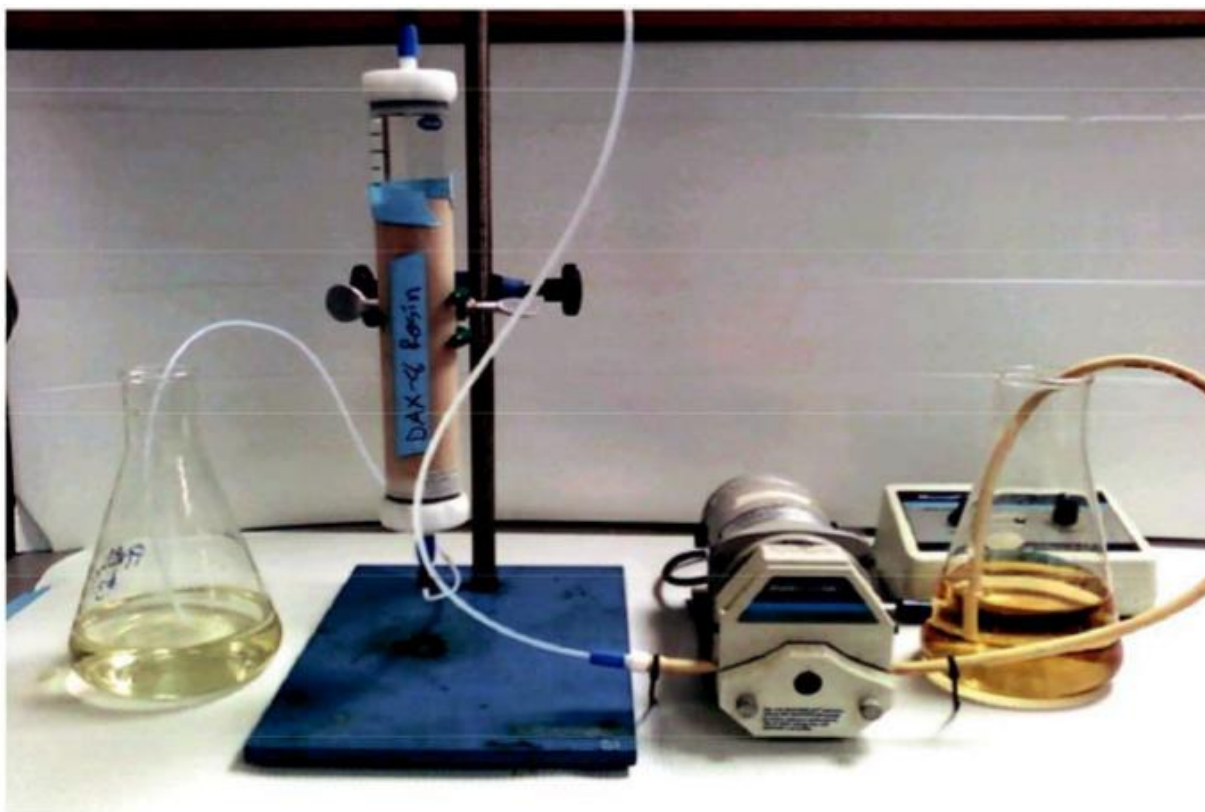
10.1 干燥后的絮凝腐植酸中会含有一些残余灰分。灰分含量的测定方法是将干燥后的絮凝腐植酸置于高温离心管或坩埚中，在500 °C的马弗炉中灼烧4 h至恒重。如果在灰化过程中形成了任何固体团块，用玻璃棒小心地将团块打散。不可使用金属棒。

10.2 在达到恒重后，从马弗炉中取出含有絮凝腐植酸的离心管或坩埚，放入干燥器中冷却至室温。

10.3 冷却后进行称量，离心管或坩埚+灰分的总质量减去离心管或坩埚的质量，即为絮凝腐植酸灰分质量 m_2 。

11 疏水性黄腐酸的分离

11.1 由于疏水性黄腐酸能够被选择性吸附在酸性疏水树脂(即 Supelite DAX-8)上，而亲水性可溶酸无法被吸附，使用酸性疏水树脂将疏水性黄腐酸与其他水溶酸分离。向玻璃层析柱(4 cm×25 cm)中填充树脂280 mL，树脂需浸泡在去离子水中，以防止气泡产生。树脂顶部到柱子顶部保持约2.5 cm的最佳空间(见图1)，以确保在树脂上方留下足够的空间，用以监视流速。如果使用新的树脂，在使用前依据14.1清洁树脂。在层析柱树脂使用后，依据14.1.3完成树脂再生。当试验结束后，将树脂储存在甲醇中。在重新使用树脂之前，用去离子水洗去甲醇，在大烧杯中使用泥浆清洗技术进行冲洗，至无甲醇残留(有机碳浓度低于2 mg/L)。如果树脂变色，或已使用约15次，需要使用质控物质进行质量控制测试。如果有必要，依据14.1清洗树脂或更换新的树脂。



注：照片右侧的锥形瓶中的溶液为含黄腐酸组分。

图1 疏水性黄腐酸分离装置示例

11.2 使用蠕动泵从层析柱顶端泵入含黄腐酸组分溶液，通过调节蠕动泵流量，确保实验过程中液体能够完全浸没树脂，同时液体不会溢出层析柱。建议流量 4 mL/min~5 mL/min。切勿使溶液液面低于树脂顶端。弃去流出物。

11.3 使用去离子水冲洗层析柱，调节蠕动泵流量为约 4 mL/min ~5 mL/min，以确保树脂被完全浸没。持续洗涤直至流出液的紫外吸光度 $A = 0.015(350 \text{ nm})$ ，或洗脱 2 个柱体积的去离子水后（以先出现者为准），所用去离子水不要超过 2 个柱体积。弃去流出物。

11.4 用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液从树脂中反向洗脱疏水性黄腐酸（即由层析柱底部向上通入 NaOH 溶液），NaOH 溶液用蠕动泵泵入（流量约为 4 mL/min~5 mL/min）。收集含疏水性黄腐酸的流出液。当溶液的吸光度 $A = 0.030(350 \text{ nm})$ 时，或洗脱 3 个柱体积的 NaOH 溶液后（以先出现者为准）。所用 NaOH 洗脱溶液不要超过 3 个柱体积。

12 氢离子交换

12.1 依据 14.2 制备氢离子交换树脂，依据 14.2.1 将 500 mL 氢离子交换树脂装入 5 cm×50 cm 的层析柱中。从顶部将含疏水性黄腐酸溶液泵入层析柱，使其只在重力作用下流出层析柱。重复该步骤 2 次。该步骤通过将疏水性黄腐酸中的 Na^+ 替换为 H^+ ，使疏水性黄腐酸质子化。

12.2 用 500 mL 去离子水洗涤层析柱。将洗涤后的溶液加入质子化的疏水性黄腐酸溶液中（12.1）。

12.3 在 65 °C 下，旋转蒸发疏水性黄腐酸溶液，将溶液体积浓缩至约 50 mL~60 mL。旋蒸温度不得超过 65 °C。

12.4 将疏水性黄腐酸浓缩液置于已恒重坩埚（8.1）中，在烘箱中(62 °C ±3 °C)烘干至恒重，若样品发生结块，敲碎结块。烘干温度不得超过 65 °C。

12.5 干燥至恒重后，将装有疏水性黄腐酸浓缩物的坩埚放入干燥器中冷却至室温。记录坩埚+浓缩物的总质量。从总质量减去坩埚的质量，即为干燥后疏水性黄腐酸质量。

12.6 测定疏水性黄腐酸灰分质量。操作步骤同 10 灰分含量的测定，使用准备好的坩埚或高温离心管。

12.7 依据 13.2 至 13.4 中公式计算疏水性黄腐酸含量。

13 计算

13.1 无灰腐植酸质量

灰分(%) = (絮凝腐植酸灰分质量 ÷ 干燥后絮凝腐植酸质量) × 100

无灰腐植酸质量 = 干燥后絮凝腐植酸质量 × (1 - 灰分)

13.2 无灰疏水性黄腐酸质量

灰分(%) = (疏水性黄腐酸灰分质量 ÷ 干燥后疏水性黄腐酸质量) × 100

无灰疏水性黄腐酸质量 = 干燥后疏水性黄腐酸质量 × (1 - 灰分)

13.3 固体样品中被测物百分比

固体样品中被测物含量(%) = (无灰被测物质量 ÷ 试样干重) × 100

13.4 液体样品中被测物百分比

液体样品中被测物含量(%) = (无灰被测物质量 ÷ 液体试样质量) × 100

14 树脂再生及柱制备

14.1 概述

14.1.1 层析树脂的制备

在使用新树脂或变色的旧树脂前需进行此制备步骤。依次使用甲醇，二乙醚，乙腈和甲醇对树脂进行索氏提取，每种有机溶剂提取8 h，每两次提取之间间隔2 h。制备后的树脂如不立即使用，需要将其储存在甲醇中。

14.1.2 层析柱的制备

在柱填充之前，用去离子水洗去树脂上残留的甲醇，在大烧杯中使用泥浆清洗技术进行冲洗，至无甲醇残留(有机碳浓度低于2 mg/L)。将280 mL树脂装入层析柱中，用0.1 mol/L NaOH溶液和0.1 mol/L HCl溶液交替冲洗3次，以除去树脂中的杂质。

14.1.3 层析树脂的再生

对于装有280 mL树脂的4 cm×25 cm的层析柱，使用2个柱体积的去离子水清洗树脂，使用蠕动泵将去离子水从顶部泵入层析柱，使水仅在重力的作用下流出层析柱。再用1个柱体积的0.1 mol/L的HCl溶液冲洗柱子。

14.2 氢型 H^+ 交换树脂的再生

14.2.1 氢型 H^+ 交换树脂采用间歇法再生，将至少 500 mL 树脂倒入 4 L 烧杯中，倾倒出烧杯中的液体，用 1 mol/L 的 HCl 浸没树脂。静置至少 30 min，每 5 min 搅拌一次。将酸倒出，用去离子水浸没树脂。用搅拌棒猛烈搅拌 15 s，静置 5 min。将水倒出，再次用去离子水浸没树脂，用力搅拌。

14.2.2 将 500 ml 已再生的 H^+ 交换树脂装入 5 cm × 50 cm 的层析柱中。用去离子水洗涤，直至漂洗水使用 AgNO_3 不再检出 Cl^- 。

附 录 A
(资料性)
木质素磺酸盐预筛选试验

A.1 概述

从腐殖物质中提取的黄腐酸既有碱溶性的也有酸溶性的,均符合黄腐酸的传统定义。然而本文件将碱溶性和酸溶性物质定义为含黄腐酸组分,因为有许多物质都符合这种广义操作型定义。含黄腐酸组分中可能含有也可能没有我们所关心的被测物质:疏水性黄腐酸。市场上存在一些被作为黄腐酸销售的物质,尤其是木质素磺酸盐,因此必须预筛选判断被测样品中是否存在木质素磺酸盐。

注意: 本文件中使用的疏水性吸水树脂与木质素磺酸盐不兼容。木质素磺酸盐不能从树脂中定量解吸,并且会永久损伤树脂。

腐殖物质的气味为无味或有轻微石油气味。由于木质素磺酸盐是经由亚硫酸盐处理的木质素,其具有独特的硫磺气味。但感官判断不能作物决定性判定依据,木质素磺酸盐的预筛选是通过分析其中硫(S)元素含量完成的。

A.2 硫含量

木质素磺酸盐中的总硫含量通常约为5%。由于腐殖质中硫的浓度通常 $< 1\%$, 平均约为 0.6% 。任何总硫(S)含量超过 0.75% 的产品,可通过傅里叶变换光谱 (FTIR)分析确定是否存在木质素磺酸盐。

A.3 FTIR 分析

傅里叶变换光谱法(FTIR)基于红外光吸收引起化学键弯曲和拉伸的原理。中红外光谱 (Mid-FTIR) 记录了 $4\,000\text{ cm}^{-1}$ ~ 400 cm^{-1} 之间以波数形式释放的能量。观察到的物质红外光谱的吸收峰对应组成该物质的原子键之间的振动频率。由于没有两种化合物产生完全同样的红外光谱,因此通常使用FTIR 分析来正确识别物质。许多商业实验室可提供FTIR光谱分析报告。

A.3.1 磺酸键的光谱

木质素磺酸盐的硫-氧键在 $1\,030\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,041\text{ cm}^{-1}$ 处发生了S=O键的特征对称拉伸;在 $1\,150\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,200\text{ cm}^{-1}$ 处发生了O=S=O的对称拉伸,在 $1\,330\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,430\text{ cm}^{-1}$ 处发生了O=S=O的不对称拉伸。在复杂混合物中,很难通过中红外光谱检测含量 $< 500\text{ mg/kg}$ 的木质素磺酸盐。而木质素磺酸盐在 $1\,700\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,730\text{ cm}^{-1}$ 处缺少脂肪族羧酸C=O拉伸的特征尖峰,在 $1\,680\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,710\text{ cm}^{-1}$ 处缺少与羧酸结合的芳香族羧酸C=O拉伸所形成的较弱的典型吸收峰。这些峰的缺失可用于排除疏水性黄腐酸的存在,而不是证明木质素磺酸盐的存在。木质素磺酸盐的FTIR光谱参见A.3.4。

A.3.2 黄腐酸的光谱

腐植酸和疏水性黄腐酸在大约 $1\,620\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,720\text{ cm}^{-1}$ 处均具有强的双峰。在 $1\,600\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,710\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内存在芳香族C=O拉伸, $1\,700\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,730\text{ cm}^{-1}$ 存在脂肪族C=O的拉伸。由于黄腐酸含有更多的一COOH基团,其在 $1\,720\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收相较于腐植酸更强。这些波带在木质素磺酸盐的光谱中很弱或不存在。通常羧酸在 $1\,220\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,400\text{ cm}^{-1}$ 处有两个较弱的特征峰,分别是由C-O键的拉伸($1\,210\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,320\text{ cm}^{-1}$)和O-H键的平面弯曲($1\,395\text{ cm}^{-1}$ ~ $1\,440\text{ cm}^{-1}$)产生的。疏水性黄腐酸的光谱见 A.3.5。

A.3.3 FTIR 分析条件

样品介质: 水

光谱波数范围: 中红外区域 ($4\,500\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$)

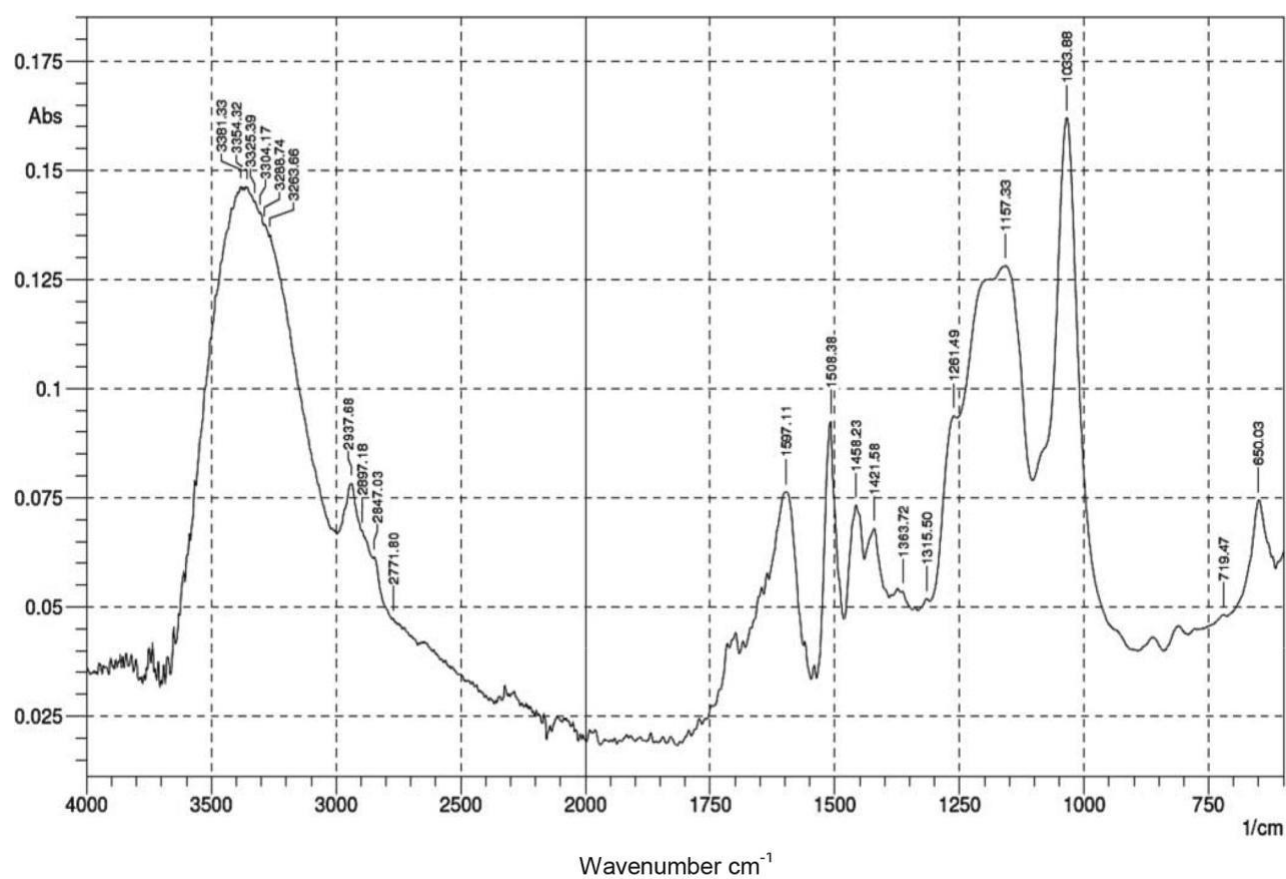
变迹(切趾)函数: Happ-Genzel

分辨率: 4 cm^{-1}

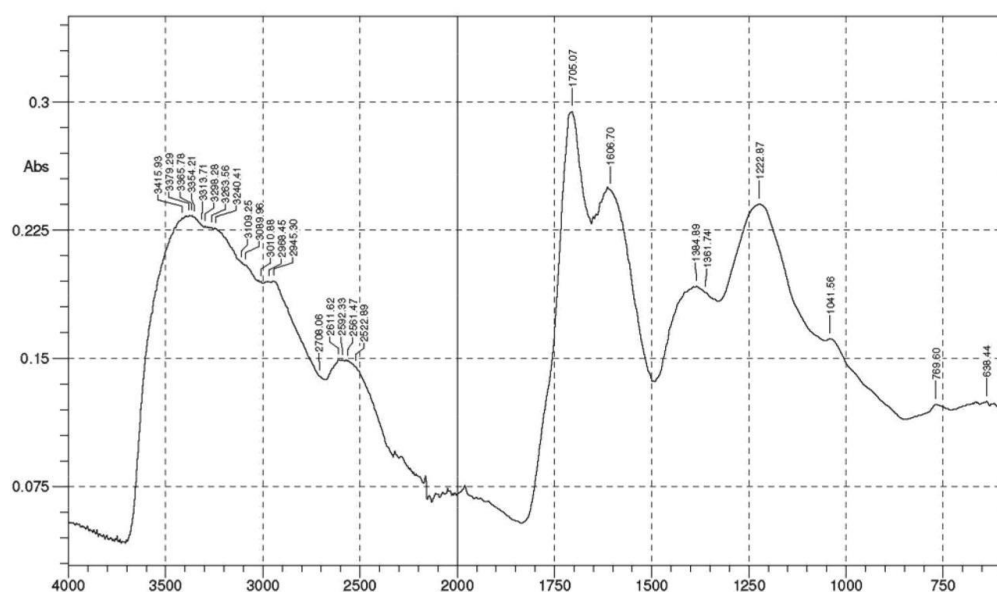
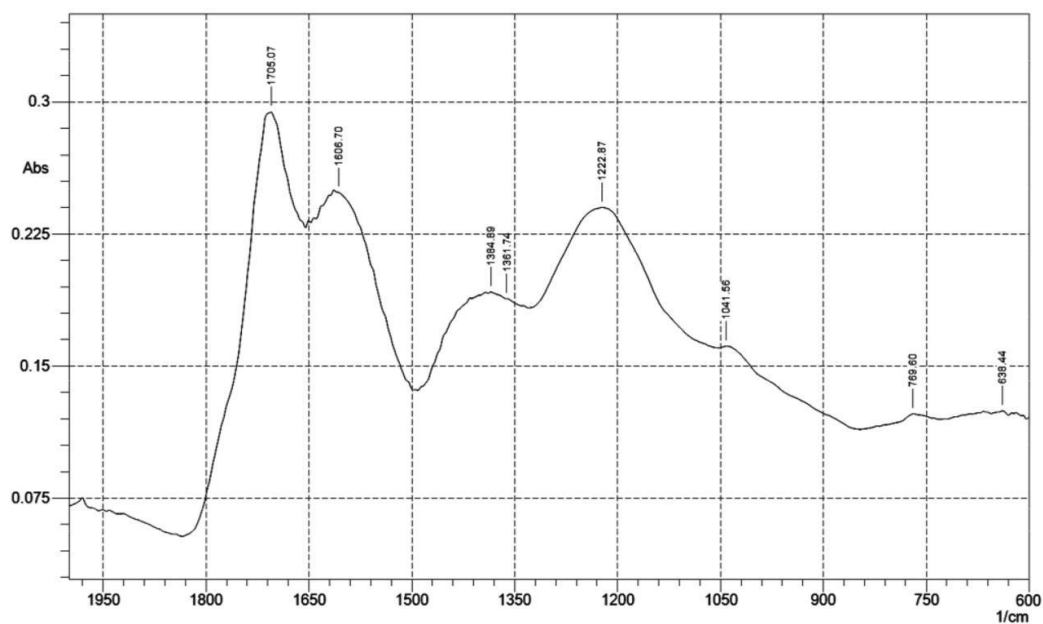
扫描次数: 16 ~ 64

温度: 296 K

A. 3. 4 商品木质素磺酸盐的代表性光谱



A. 3.5 国际腐殖物质协会 2S103F 萨旺尼河黄腐酸标准物质光谱图

A. 3.6 国际腐殖物质协会 2S103F 萨旺尼河黄腐酸标准物质 600 cm^{-1} 至 $1\ 900\text{ cm}^{-1}$ 中红外光谱图

附录 B

(资料性)

ISO/CD 19822 实验室间比对研究

ISO/CD 19822 实验室间比对的目的是对 11 个参与实验室所测得的数据进行统计分析, 依据 ISO 5725-2:1994 确定该方法的精密度。精密度是指参与实验室使用相同方法测定相同的物质, 所得出的测试结果之间的一致性, 以确定在实际测试条件下可能出现的结果差异。

2016 年 2 月, 向多个实验室发出邀请函, 邀请其参加 ISO 用于分析商业产品中腐植酸和疏水性黄腐酸的分析方法的实验室间比对研究。来自 6 个国家的 12 个实验室同意参加这项研究, 并遵守以下标准:

- a) 在研究开始前准备好所有的必要的仪器、化学品及方法中规定的其他要求;
- b) 严格满足具体的时间要求, 如: 计划的开始日期和结束日期;
- c) 应严格遵守操作规程, 不得作任何修改;
- d) 分析测试应由有资质的实验人员完成;
- e) 每项分析均须在可重复性条件下进行, 即由同一实验人员在不同日期使用同一设备进行;
- f) 上报 4 次平行测定的结果, 无论数据多么不平行, 都不能舍弃或重新分析。

实验室间比对研究于 2016 年 6 月开始, 第一阶段为前期研究。

第一阶段 包括使用 ISO/CD 19822 的程序对样品进行分析测定。本阶段用于帮助实验室熟悉检测方法, 如遇到任何技术问题, 可以与项目负责人沟通。样品由美国腐植酸产品贸易协会免费提供给实验室。

第一阶段分析了两种样品: 一种固体矿物样品和一种液体商品。由于先前已对固体进行了均质化处理, 而液体产品在取出试样之前只需在容器中摇晃样品即可混匀, 因此采样变异性大大降低。主办方提供了足够的样品, 以提供多次分析测定。

每个实验室都被分配了一个保密的实验室序号。每个实验室向项目负责人报告了两个样品的 4 次重复测定结果以及试验过程中的观察及对其的意见。项目负责人对数据进行统计分析后, 将结果分享给所有参与实验室。

对第一阶段前期研究结果的初步统计分析显示, 所报告的被测物具有很高的变异性。通过对各实验室上报的固体样品的水分、腐植酸(HA) 以及疏水性黄腐酸(HFA)的灰分、洗脱柱体积、DAX-8 树脂用量的分析, 对操作规程进行了修订。内容如下:

- 固体样本的水分测定;
- 腐植酸(HA)和疏水黄腐酸(HFA)的灰分测定;
- 使用分光光谱仪测定吸光度以确定疏水黄腐酸达到平衡;
- 用于洗脱的柱体积;
- 层析柱中的 Dax-8 树脂的体积;
- Amberlite 离子交换树脂体积;

—选择使用重型高温离心管代替塑料管，无需将材料转移到耐热坩埚。

实验室的意见汇编后分发给参与的实验室。组织者对参与者的技术建议进行了评估，并纳入标准草案，以进一步完善分析步骤。

2016年7月15日，实验室间研究的第二阶段开始。

第二阶段中测定了4个腐植酸商品，各样品具有不同的水分、灰分、腐植酸含量和疏水性黄腐酸含量。要求参与实验室在不同的日期，由同一实验人员，使用相同的设备对每个样品进行4次重复测定。由于固体样品已被项目负责人粉碎、筛分和混匀，参与者可直接使用收到的固体样品，无需制样。液体样品由实验人员在检测前摇晃样品1分钟来混匀样品。

四种不同的样品被运送给参与者：

- 第一阶段所使用的固体矿物样品(QCM1.1)；
- 固体矿物样品(D2)，样品来源于来自另一个矿山，其腐植酸含量低于 QCM 1.1；
- 液体萃取物(L2)；
- 液体提取物(L3)，其腐植酸和疏水黄腐酸含量均为样品 L2 的 2 倍。

项目负责人对实验室提交的数据进行统计分析，汇编的数据连同统计分析一起送交所有参与实验室。

结果

对此次参与实验室报告的数据进行了与第一阶段相同的统计分析，使用相同的统计分析软件确定了离群值。可能的近离群值被定义为小于第一个四分位数 $-1.5 \times IQR$ 和大于第三四分位数 $+1.5 \times IQR$ 的数。可能的远离群值被定义为小于第一个四分位数 $-3.0 \times IQR$ 和大于第三个四分位数 $+3.0 \times IQR$ 的数。通过比较，第二阶段的被测物质浓度的测定结果相较于第一阶段更加稳定，这表明实验人员更加熟悉了实验步骤。表1总结了所有测定参数的平均值，不包括离群值。2016年11月15日，项目负责人在中国临沂，向国际标准化组织 134 技术委员会第2工作组汇报了实验室间比对研究数据结果以及造成部分数据离群的原因。

依据 ISO 5725-2《测量方法与结果的准确度-第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》计算方法的重复性和再现性。统计结果于2017年初通过电子邮件提交给第2工作组，2017年6月11日在巴西瓜鲁雅举行的会议中讨论了 ISO/TC 134 第2工作组讨论了该标准并提出了意见。

表 B.2 列出了实验室间比对研究中检测结果的精密度和重复性。

表 B.1 四种样品的水分、灰分和无灰被测组分浓度的平均值

样品号	水分/%	腐植酸提取物 灰分/%	黄腐酸提取物 灰分/%	腐植酸含量/%	疏水性黄腐酸含 量/%
QCM 1.1	9.03	15.28	11.11	59.08	2.37
D2	12.79	18.94	37.56	56.02	2.00
L2	—	15.32	50.76	5.76	0.69
L3	—	15.79	34.9	8.91	1.28

表 B.2 r (重复性)和 R (再现性)

样品号	腐植酸				疏水性黄腐酸			
	r	R	$r/\%$	$R/\%$	r	R	$r/\%$	$R/\%$
QCM 1.1	4.08	9.98	6.91	16.9	0.55	2.63	23.26	110.9
D2	2.64	15.94	4.71	28.45	0.95	1.62	47.38	81

L2	0.78	1.42	13.61	24.63	0.5	0.96	72.9	139.2
L3	1.1	2.05	12.3	22.98	0.65	1.63	50.86	127.1

参考文献

- [1] Swift R.S. 1996. Organic Matter Characterization. In Sparks D.L. (eds.) *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical methods*. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, pp. 1018-1020
- [2] Stevenson F.J. 1994. *Humus Chemistry; Genesis, Composition, Reactions*, 2nd Edition. John Wiley and Sons, Inc., New York
- [3] Lamar R.T., Olk D.C., Mayhew L., Bloom P.R. 2014. A new standardized method for quantification of humic and fulvic acids in humic ores and commercial products. *Journal of AOAC International* **97**: 721-730
- [4] Hayes M.H.B., & Graham C.L. 2000. Procedures for the isolation and fractionation of humic substances. In: Ghabbour E.A., & Davies G. (eds.), *Humic Substances: Versatile Components of Plants, Soil and Water*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. p106
- [5] Leenheer J. A., & Croué J.P. 2003. Characterizing dissolved aquatic organic matter. *Environmental Science & Technology* **37**: 18A-26A
- [6] Leenheer J. A. 2009. Systematic approaches to comprehensive analyses of natural organic matter. *Annals of Environmental Science* **3**: 1-130
- [7] Smith B. *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*. CRC Press, Boca Raton, FL
- [8] ISO 3696, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*
-