

中华人民共和国地质矿产行业标准

DZ/T 0253.6—202X

生态地球化学评价动植物样品分析方法
第6部分：磷含量的测定 干法灰化-分
光光度法

Analytic methods for biologic samples in eco-geochemistry assessment—Part 6:
Determination of phosphorus content—Dry ashing-spectrophotometry

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(报批稿)

(本稿完成日期：2022年8月)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中华人民共和国自然资源部 发布

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂或材料	1
6 仪器设备	2
7 样品	2
8 试验步骤	2
8.1 空白试验	2
8.2 验证试验	2
8.3 平行试验	3
8.4 样品分解	2
8.5 测定	3
9 试验数据处理	3
10 精密度	3
11 正确度	4
12 质量保证与控制	4

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》和GB/T 20001.4—2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的规定起草。

本文件为DZ/T 0253《生态地球化学评价动植物样品分析方法》的第6部分，DZ/T 0253已经发布了以下部分：

- 第1部分：锂、硼、钒等19个元素量的测定 电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）法；
- 第2部分：硒量的测定 原子荧光光谱法；
- 第3部分：总汞的测定 冷原子荧光光谱法；
- 第4部分：氟量的测定 扩散-分光光度法；
- 第5部分：钡、钙、铜、铁、钾、镁，锰、钠、镍、磷、硫、锶和锌含量的测定 微波消解-电感耦合等离子体原子发射光谱法；
- 第6部分：磷含量的测定 干法灰化-分光光度法；
- 第7部分：无机砷含量的测定 超声波提取-原子荧光光谱法。

本文件由中华人民共和国自然资源部提出。

本文件由全国自然资源与国土空间规划标准化技术委员会（SAC/TC93）归口。

本文件起草单位：国家地质实验测试中心。

本文件主要起草人：孙德忠、许春雪、安子怡、陈宗定、王苏明、王亚平。

引 言

生态地球化学调查评价样品的分析,是随着多目标地球化学调查工作逐步开展和深化而进行的一项分析工作,其目的是依据多目标地球化学调查结果或其它区域地球化学调查结果,对各个生态系统,包括江河生态系统、农田生态系统、城市生态系统、浅海生态系统、草原生态系统进行评价。

在生态地球化学调查的评价阶段,依据土壤圈的调查结果,进一步追索元素在岩石圈、土壤圈、水圈与生物圈中的迁移转化及其产生的生态效应,选择典型和代表性地区,进行多介质采样和选择性指标的分量分析和活动态分析,生物(包括动、植物)样品是该阶段分析测试主要工作对象之一。

组成生物的元素均来自地质环境,生物通过不断与环境交换物质,这种交换涉及固相(岩石圈)、液相(水圈)和气相(大气圈),最终趋于一种动态平衡。来自地壳表层的地球化学元素,由母岩通过风化作用释放出来进入土壤,然后活化成有效态被植物吸收。进入植物体的元素必然会对其生长发育产生影响,从而影响植物的产量、品质,再通过食物链进入动物和人体,并同样会对动物和人体的生长、健康产生重要影响。因此生态地球化学评价最终需要用动植物样品的分析结果来说明问题。

DZ/T 0253 由七个部分构成。

——第 1 部分: 锂、硼、钒等 19 个元素量的测定 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法。目的在于确立微波消解,电感耦合等离子体质谱法测定生态地球化学评价动植物样品中锂、硼、钒、铬、锰、钴、镍、铜、锌、砷、铷、锶、钼、镉、铍、钽、铅和钍含量的分析方法;

——第 2 部分: 硒量的测定 原子荧光光谱法。目的在于确立微波消解,原子荧光光谱法测定生态地球化学评价动植物样品中硒含量的分析方法。

——第 3 部分: 总汞的测定 冷原子荧光光谱法。目的在于确立微波消解,冷原子荧光光谱法测定生态地球化学评价动植物样品中总汞含量的分析方法。

——第 4 部分: 氟量的测定 扩散-分光光度法。目的在于确立扩散,分光光度法测定生态地球化学评价动植物样品中氟含量的分析方法。

——第 5 部分: 钡、钙、铜、铁、钾、镁, 锰、钠、镍、磷、硫、锶和锌含量的测定 微波消解-电感耦合等离子体原子发射光谱法。目的在于确立微波消解,电感耦合等离子体原子发射光谱法测定生态地球化学评价动植物样品中钡、钙、铜、铁、钾、镁, 锰、钠、镍、磷、硫、锶和锌含量的分析方法。

——第 6 部分: 磷含量的测定 干法灰化-分光光度法。目的在于确立干法灰化,分光光度法测定生态地球化学评价动植物样品中钡、钙、铜、铁、钾、镁, 锰、钠、镍、磷、硫、锶和锌含量的分析方法。

——第 7 部分: 无机砷含量的测定 超声波提取-原子荧光光谱法。目的在于确立超声波提取,原子荧光光谱法测定生态地球化学评价动植物样品中无机砷含量的分析方法。

DZ/T 0253.1~DZ/T 0253.4已于2014年发布实施,本次发布的DZ/T 0253.5~DZ/T 0253.7确定了包括方法检出限、测定范围、精密度、正确度等技术指标和检验参数,旨在进一步完善《生态地球化学评价动植物样品分析方法》体系,为生态地球化学调查评价动植物样品分析提供技术依据。

生态地球化学评价动植物样品分析方法

第6部分：磷含量的测定 干法灰化-分光光度法

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关规定的条件。

1 范围

本文件规定了干法灰化-分光光度法测定生态地球化学评价动植物样品中磷含量的方法。
本文件适用于生态地球化学评价动植物样品中磷含量的干法灰化-分光光度法测定。
当取样量为1 g，定容至50 mL时，本方法测定磷的检出限为22 $\mu\text{g/g}$ ，测定范围为75 $\mu\text{g/g}$ ~2.5 %。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6379.2 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

GB/T 6379.4 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第4部分：确定标准测量方法正确度的基本方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

DZ/T 0253.1—2014 生态地球化学评价动植物样品分析方法 第1部分：锂、硼、钒等19元素量的测定 电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

样品经灰化后酸溶解，磷在酸性条件下磷与钒钼酸铵反应，生成黄色络合物钒钼黄。在一定的浓度范围内，钒钼黄在440 nm的吸光度值与样品溶液中磷的质量浓度成正比，通过测定吸光度值来计算样品中磷的含量。

5 试剂或材料

本文件除非另有说明，在分析中均使用确认为分析纯的试剂。

5.1 水，GB/T 6682，三级。

- 5.2 硝酸 ($\rho=1.42\text{ g/mL}$)。
- 5.3 盐酸溶液 (1+1)。
- 5.4 钼钒酸铵溶液：称取 25 g 钼酸铵 $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ ，溶于 400 mL 水中，此溶液为 A 液；称取 1.25 g 偏钒酸铵 (NH_4VO_3) 溶于 300 mL 沸水中，冷却后加 250 mL 硝酸 (见 5.2)，此溶液为 B 液；将 A 液缓缓倾入 B 液中，不断搅匀，并用水稀释至 1 L，贮于棕色瓶中，若生成沉淀，则不能继续使用。
- 5.5 氢氧化钠溶液 [$c(\text{NaOH})=6\text{ mol/L}$]：称取 240 g 氢氧化钠，溶解于 1 L 水中，混匀。
- 5.6 氢氧化钠溶液 [$c(\text{NaOH})=0.1\text{ mol/L}$]：称取 4 g 氢氧化钠，溶解于 1 L 水中，混匀。
- 5.7 硝酸溶液 [$c(\text{HNO}_3)=0.2\text{ mol/L}$]：吸取 12.5 mL 硝酸 (见 5.2)，用水稀释至 1 L，混匀。
- 5.8 磷标准储备溶液 [$\rho(\text{P})=1.000\text{ mg/mL}$]：称取 4.394 g 经 105 °C 干燥至恒重的磷酸二氢钾 (KH_2PO_4 ，纯度 99.99%)，加水溶解后，再加入 5 mL 硫酸，移入 1000 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。可使用磷溶液有证标准物质。
- 5.9 磷标准溶液 [$\rho(\text{P})=50.0\text{ }\mu\text{g/mL}$]：由磷标准储备溶液 (见 5.8) 用水逐级稀释得到。
- 5.10 二硝基酚指示剂溶液 ($\rho=2\text{ g/L}$)：称取 0.2 g 2,6-二硝基酚或 2,4-二硝基酚 [$\text{C}_6\text{H}_3\text{OH}(\text{NO}_2)_2$] 溶于 100 mL 水中，混匀。

6 仪器设备

- 6.1 紫外-可见分光光度计。
- 6.2 分析天平：感量 0.1 mg。
- 6.3 马弗炉：最高温度为不低于 800 °C，控温精度 $\pm 10\text{ }^\circ\text{C}$ 。
- 6.4 温控式电热板：最高温度为不低于 210 °C，控温精度 $\pm 5\text{ }^\circ\text{C}$ 。
- 6.5 可调式电热炉。
- 6.6 瓷坩埚或石英坩埚。

7 样品

- 7.1 样品的采集和制备参见 DZ/T 0253.1—2014 附录 B。
- 7.2 根据样品中磷含量高低，称取固体、半固体均匀样品 0.5 g~2 g，精确至 0.1 mg；此为试验用样品。
注：称样量以干基质量预估，参见 DZ/T 0253.1—2014 附录 B。

8 试验步骤

8.1 空白试验

随同样品进行双份空白试验，所用试剂应取自同一瓶试剂，加入同等的量。

8.2 验证试验

随同样品分析同类型，含量相近的标准物质。

8.3 平行试验

随同样品进行平行试验，平行试验与样品试验同时进行，采用相同的试验步骤。

8.4 样品分解

8.4.1 将试验用样品（见 7.2）置于瓷（石英）坩埚（见 6.6）中在电热板（见 6.4）上 120 °C 焙干后，移至电热炉（见 6.5）上小火炭化至无烟，再移入马弗炉（见 6.3）中缓缓升温至 550 °C 下灰化，直至灰分呈灰白（黄）色为止。对难以完全灰化的样品，可在加入硝酸（见 5.2）润湿蒸干后再灰化。

8.4.2 取出坩埚后冷却至室温，加 10 mL 盐酸溶液（1+1）（见 5.3），在电热板上 140 °C 加热蒸干。再加 2 mL 盐酸溶液（1+1）（见 5.3）低温溶解残渣，用水分数次将残渣完全洗入 50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀备测，此为样品溶液。

8.5 测定

8.5.1 校准曲线的绘制

准确吸取磷标准溶液（见 5.9）0 mL、2.50 mL、5.00 mL、7.50 mL、10.0 mL、15.0 mL 于 50 mL 容量瓶中，在每个容量瓶中加入 10 mL 钒钼酸铵溶液（5.4），用水稀释至刻度，在常温下放置 15 min，该系列标准溶液中磷质量分别为 0 μg、125 μg、250 μg、375 μg、500 μg、750 μg。用 1 cm 比色皿，以零点作参比，于 440 nm 波长测定磷质量为 125 μg、250 μg、375 μg、500 μg、750 μg 的系列标准溶液的吸光度值。以吸光度值为纵坐标，磷的质量为横坐标，绘制校准曲线。

8.5.2 样品溶液的测定

根据样品溶液中磷含量的高低准确吸取样品溶液（见 8.4.2）2.00 mL~20.0 mL 于 50 mL 容量瓶中，加少量水后，加 2 滴二硝基酚指示剂（见 5.10），先用氢氧化钠溶液（见 5.5）调至黄色，再用硝酸溶液（见 5.7）调至无色，最后用氢氧化钠溶液（见 5.6）调至微黄色。加入 10 mL 钒钼酸铵溶液（见 5.4），用水定容至刻度，常温下放置 15 min 后，此为样品测定溶液。在 440 nm 波长下测定样品测定溶液的吸光度值，计算样品中磷的含量。

9 试验数据处理

样品中磷的含量以质量分数 $w(\text{P})$ 计，以“%”表示，按下式计算：

$$w(\text{P}) = \frac{(m_1 - m_0)V_1}{mV_2} \times 10^{-4}$$

式中：

m_1 ——分取样品溶液（8.4.2）中磷的质量，单位为微克（μg）；

m_0 ——分取空白溶液（8.1）中磷的质量，单位为微克（μg）；

m ——试验用样品（7.2）的质量，单位为克（g）；

V_1 ——样品溶液（8.4.2）的总体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——分取样品溶液（8.4.2）的体积，单位为毫升（mL）；

所得结果表示为：0.0XX %、0.XXX %、X.XX %。

10 精密度

10.1 按 GB/T 6379.2 规定的方法，确定干法灰化-分光光度法测定生态地球化学评价动植物样品中磷含量的重复性和再现性（即方法精密度）统计结果见表 1 和表 2 相关部分。

10.2 在重复性条件下获得的两次独立测试结果，在表 1 给出的水平范围内，其绝对差值超过重复性限（ r ）的情况不超过 5%，重复性限（ r ）按表 1 所列方程式计算。

10.3 在再现性条件下获得的两次独立测试结果，在表 1 给出的水平范围内，其绝对差值超过再现性限 (R) 的情况不超过 5%，再现性限 (R) 按表 1 所列方程式计算。

表1 生态地球化学评价动植物样品中磷含量的方法精密度

单位为%

元素	水平范围 m	重复性限 r	再现性限 R
磷	0.137~1.09	$r=0.044 4m^{0.718 6}$	$R=0.173 m$
注：精密度数据是依据GB/T 6379.2，由10家实验室对6个含量水平样品，分别在重复性条件下测定4次，对数据统计剔除离群值后计算得到。			

11 正确度

按GB/T 6379.2和GB/T 6379.4规定的方法，确定干法灰化-分光光度法测定生态地球化学评价动植物样品中磷含量的重复性限与再现性限以及分析方法的偏倚，统计结果见表2。

表2 重复性限与再现性限及测量方法偏倚统计结果

统计参数	水 平					
	大米 GBW10010	鸡肉 GBW10018	黄芪 GBW10028	芹菜 GBW10048	猪肝 GBW10051	大虾 GBW10050
参加实验室数 (P)	9	9	9	9	9	9
可接受结果的实验室数 (p)	9	9	9	9	9	8
总平均值 (\bar{y}) /%	0.137	0.942	0.231	0.365	1.09	0.770
认定值 (μ) /%	0.136	0.96	0.225	0.35	1.14	0.77
重复性标准差 (S_r) /%	0.004	0.018	0.005	0.009	0.02	0.009
重复性变异系数/%	2.7	1.9	2.2	2.5	1.6	1.2
重复性限 (r) /%	0.011	0.052	0.015	0.026	0.05	0.026
再现性标准差 (S_R) /%	0.011	0.068	0.009	0.015	0.10	0.031
再现性变异系数/%	8.2	7.2	3.9	4.1	9.1	4.0
再现性限 (R) /%	0.032	0.191	0.026	0.043	0.28	0.088
测量方法偏倚 (δ) /%	0.001	-0.019	0.006	0.015	-0.05	0
$(\delta - A \cdot S_R^a)$ /%	-0.007	-0.061	0	0.005	-0.11	-0.019
$(\delta + A \cdot S_R^a)$ /%	0.008	0.024	0.011	0.025	0.01	0.020
相对误差 (RE) /%	0.74	-2.0	2.7	4.3	-4.5	0
^a $A \cdot S_R$ 为分析方法偏倚的 95%置信区间， A 为计算估计值的不确定度系数。						

12 质量保证与控制

12.1 每批样品分析，应同时进行 2 个空白试验、20%~30%的平行试验（当样品数量不超过 5 个时，应进行 100 %的平行试验）和 1 个或 2 个同类型标准物质验证试验。

12.2 由于微波消解的样品溶液本身带微黄色，会干扰指示剂显色，所以应采用干法灰化预处理样品。

12.3 如同时灰化许多样品，应常变换坩埚在马弗炉中位置，使样品均匀受热防止样品局部过热或灰化不完全。

12.4 如使用瓷坩埚，应使用釉层完好的瓷坩埚。
