

中华人民共和国国家标准

GB/T 32722—2016/ISO 18512:2007

土壤质量 土壤样品长期和短期保存指南

Soil Quality—Guidance on long and short term storage of soil samples

(ISO 18512:2007, IDT)

2016-08-29 发布

2017-03-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

目 次

前言	I
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	3
4 土壤保存概述	3
5 保存过程中土壤性质的变化	4
6 保存条件	4
6.1 概述	4
6.2 光照	4
6.3 温度	4
6.4 湿度	4
6.5 方便性、安全性、文档记录和质量控制	5
6.6 保存时间	5
6.7 保存容器和保存样品量	5
6.8 保存土样使用前的处理	5
7 分步骤方案	5
8 步骤 A:考虑进一步分析需求和保存期限	6
9 步骤 B:考虑当前与研究有关的参数	6
10 步骤 C:考虑未来可能关注的参数	6
11 步骤 D:考虑保存条件对每个参数的可能影响	6
11.1 概述	6
11.2 土壤特性	6
11.3 化学参数	7
11.4 生物学检验	9
12 步骤 E:不改变土壤性质的保存条件的设计	10
13 步骤 F:设计文档记录和标签方案(含样品管理)	10
14 步骤 G:保存和文档记录的成本预算以及上述成本与可用经费或预计经费的对比	10
15 检验报告	10
附录 A (规范性附录) 土壤样品的保存	11
参考文献	14

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准使用翻译法等同采用 ISO 18512:2007《土壤质量 土壤样品长期和短期保存指南》。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国土壤质量标准化技术委员会(SAC/TC 404)归口。

本标准起草单位:中国科学院南京土壤研究所、浙江大学、江苏省标准化研究院。

本标准主要起草人:蒋新、潘贤章、徐建明、周东美、顾长青。

土壤质量 土壤样品长期和短期保存指南

1 范围

本标准用于指导如何保存和保管土壤样品以供实验室测定,以及保存后的样品分析前的处理方法。特别强调不同保存条件下的最长保存时间。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

EN 15192:2006 废弃物和土壤的表征 通过碱消煮和离子色谱分光光度检测法测定固体材料中的六价铬含量(Characterisation of waste and soil—Determination of Chromium(VI) in solid material by alkaline digestion and ion chromatography with spectrophotometric detection)

ISO 10301 水质量 高挥发性卤化烃化物测定 气相色谱法(Water quality—Determination of highly volatile halogenated hydrocarbons—Gas-chromatographic methods)

ISO 10381-6 土壤质量 采样 第6部分:室内测定微生物过程、生物量与多样性用土壤的好氧采集、处理及贮存指南(Soil quality—Sampling—Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory)

ISO 10382 土壤质量 有机氯农药和多氯联苯的测定 气相色谱电子捕获检测法(Soil quality—Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls—Gas-chromatographic method with electron capture detection)

ISO 10390 土壤质量 pH值的测定(Soil quality—Determination of pH)

ISO 10694 土壤质量 干烧法测定有机碳和全碳(元素分析)[Soil quality—Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis)]

ISO 11048 土壤质量 水溶性和酸溶性硫酸盐的测定(Soil quality—Determination of water-soluble and acid-soluble sulfate)

ISO 11074 土壤质量 词汇(Soil quality—Vocabulary)

ISO 11259 土壤质量 简化的土壤描述(Soil quality—Simplified soil description)

ISO 11261 土壤质量 全氮的测定 改进凯氏法(Soil quality—Determination of total nitrogen—Modified Kjeldahl method)

ISO 11263 土壤质量 磷的测定 光谱法测定可溶于碳酸氢钠溶液的磷(Soil quality—Determination of phosphorus—Spectrometric determination of phosphorus soluble in sodium hydrogen carbonate solution)

ISO 11265 土壤质量 比电导率的测定(Soil quality—Determination of the specific electrical conductivity)

ISO 11266 土壤质量 有氧条件下土壤中有机化学物的生物降解性的实验室检测指南(Soil quality—Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under aerobic conditions)

GB/T 32722—2016/ISO 18512:2007

ISO 11267 土壤质量 土壤污染物对弹尾目昆虫繁殖的抑制[Soil quality—Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants]

ISO 11268-1 土壤质量 污染物对蚯蚓的影响 第1部分:用人造土壤底物测定急性毒性(Soil quality—Effect of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*)—Part 1;Determination of acute toxicity using artificial soil substrate)

ISO 11268-2 土壤质量 污染物对蚯蚓的影响 第2部分:对繁殖影响的测定(Soil quality—Effect of pollutants on earthworms(*Eisenia fetida*)—Part 2;Determination of effect on reproduction)

ISO 11466 土壤质量 可溶于王水的微量元素的提取(Soil quality—Extraction of trace elements soluble in aqua regia)

ISO 13877 土壤质量 多核芳烃的测定 高效液相色谱法(Soil quality—Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons—Method using high-performance liquid chromatography)

ISO 13878 土壤质量 干烧法测定全氮含量(元素分析)[Soil quality—Determination of total nitrogen content by dry combustion (“elemental analysis”)]

ISO 14154 土壤质量 若干选定氯酚的测定 气相色谱电子捕获检测法(Soil quality—Determination of some selected chlorophenols—Gas-chromatographic method with electron-capture detection)

ISO 14238 土壤质量 生物学方法 土壤中氮素矿化和硝化过程的测定及化学物对这些过程的影响(Soil quality—Biological methods—Determination of nitrogen mineralization and nitrification in soil and the influence of chemicals on these processes)

ISO 14240-1 土壤质量 土壤微生物生物量的测定 第1部分:底物诱导呼吸法(Soil quality—Determination of soil microbial biomass—Part 1;Substrate-induced respiration method)

ISO 14240-2 土壤质量 土壤微生物生物量的测定 第2部分:熏蒸提取法(Soil quality—Determination of soil microbial biomass—Part 2;Fumigation-extraction method)

ISO 14255 土壤质量 以氯化钙溶液做提取剂测定风干土壤中的硝态氮、氨态氮和水溶性全氮(Soil quality—Determination of nitrate nitrogen, ammonium nitrogen and total soluble nitrogen in air-dry soil using calcium chloride solution as extractant)

ISO 14256-1 土壤质量 通过氯化钾溶液提取而测定田间湿土中的硝酸盐、亚硝酸盐和氨 第1部分:人工法(Soil quality—Determination of nitrate, nitrite and ammonium in field moist soils by extraction with potassium chloride solution—Part 1;Manual method)

ISO 14507 土壤质量 有机污染物测定的样品前处理(Soil quality—Pretreatment of samples for determination of organic contaminants)

ISO 15009 土壤质量 气相色谱法测定挥发性芳烃、萘和挥发性卤代烃的含量 热解吸吹扫捕集法(Soil quality—Gas chromatographic determination of the content of volatile aromatic hydrocarbons, naphthalene and volatile halogenated hydrocarbons—Purge-and-trap method with thermal desorption)

ISO 15473 土壤质量 厌氧条件下土壤中有机化学物的生物降解性的实验室检测指南(Soil quality—Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under anaerobic conditions)

ISO 15685 土壤质量 硝化势和硝化抑制的测定 氧化铵快速试验(Soil quality—Determination of potential nitrification and inhibition of nitrification—Rapid test by ammonium oxidation)

ISO 15799 土壤质量 土壤和土壤材料的生态毒理学表征指南(Soil quality—Guidance on the ecotoxicological characterization of soil and soil materials)

ISO 15903 土壤质量 土壤和采样地信息记录格式(Soil quality—Format for recording soil and site information)

ISO 15952 土壤质量 污染物对幼蜗牛的影响 土壤污染对其生长的影响的测定[Soil quality—

Effects of pollutants on juvenile land snails (Helicidae)—Determination of the effects on growth by soil contamination]

ISO 16072 土壤质量 土壤微生物呼吸强度的测定 室内培养法 (Soil quality—Laboratory methods for determination of microbial soil respiration)

ISO 16387 土壤质量 污染物对线蚓科的影响 对繁殖和存活率影响的测定 [Soil quality—Effects of pollutants on Enchytraeidae (Enchytraeus sp.)—Determination of effects on reproduction and survival]

ISO 16703 土壤质量 气相色谱法测定 C10 至 C40 烃类含量 (Soil quality—Determination of content of hydrocarbon in the range C10 to C40 by gas chromatography)

ISO 17155 土壤质量 用呼吸曲线测定土壤微生物区系的丰度和活性 (Soil quality—Determination of abundance and activity of soil microflora using respiration curves)

ISO 20963 土壤质量 污染物对昆虫幼虫 (Oxythyrea funesta) 的影响 急性毒性的测定 [Soil quality—Effects of pollutants on insect larvae (Oxythyrea funesta)—Determination of acute toxicity]

ISO 22030 土壤质量 生物学方法 对高等植物的慢性毒性 (Soil quality—Biological methods—Chronic toxicity in higher plants)

ISO 22155 土壤质量 气相色谱定量测定挥发性芳烃、卤代烃和选定醚的含量 静态顶空法 (Soil quality—Gas chromatographic quantitative determination of volatile aromatic and halogenated hydrocarbons and selected ethers—Static headspace method)

ISO 23753-1 土壤质量 土壤中脱氢酶活性的测定 第 1 部分:氯化三苯基四氮唑 (TTC) 法 [Soil quality—Determination of dehydrogenase activity in soils—Part 1: Method using triphenyltetrazolium chloride (TTC)]

ISO 23753-2 土壤质量 土壤中脱氢酶活性的测定 第 2 部分:氯化碘代四氮唑 (INT) 法 [Soil quality—Determination of dehydrogenase activity in soil—Part 2: Method using iodotetrazolium chloride (INT)]

3 术语和定义

ISO 11074 和 ISO 11259 界定的术语和定义适用于本文件。

在本标准中,“冷藏”指的是温度在 $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,“冷冻”指的是温度低于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

4 土壤保存概述

许多研究都涉及野外土壤采样,以及随后在实验室对所采集样品进行不同性质的测定。通常,土壤样品在调查地点采集,就地混合或经其他处理,装入容器,然后运回实验室。到实验室后,样品分析前可经再次处理。有些可直接保存以备后用。分析结束后,剩下的样品可丢弃或进行保存。当需要进一步分析,以便将来需要核对已测的参数,或进行补充测定时,需对样品进行保存。

实际工作中有两种情况与样品保存有关。

——土壤样品的常规测试,例如,环境试验室中,取样后的土壤样品通常会保存几周,以进行一些额外的测试,或为了验证早期测定结果。

——某些情况下样品要保存较长时间,有时会超过数十年,例如监测计划、基准物质,或者涉及降解试验的研究计划。

这两种情况都属于本标准的范畴。

从采样开始,各阶段的保存条件都宜仔细选择。由于在运输过程中可能会发生意外延迟,即便计划

GB/T 32722—2016/ISO 18512:2007

运输时间较短,也宜适用本标准。需考虑的保存条件有光、温度、湿度、方便性、保存时间、容器种类以及样品保存量等。样品和保存条件的文档记录也同样重要。宜考虑风险和安全性。设计恰当的保存条件对大规模研究尤其重要,例如监测性项目,经多年积累,样品数量可以很大。保存条件选择不当可导致成本增高,也可使样品不适宜将来使用。

样品保存对生物多样性的影响仅指对微生物多样性的影响。

放射性物质增加或减少所引起的放射性改变应考虑各自有关的化合物。放射性衰变一般不受样品保存的影响,因此本标准不予考虑。

5 保存过程中土壤性质的变化

需要考虑下述可引起样品变化的主要的生物、化学和物理现象:

- 含水量改变;
- 生物活性;
- 挥发性物质的挥发或沉降;
- 与空气发生的化学反应;
- 与容器发生的反应。

如果没有选择恰当的保存条件来控制上述现象,土壤参数可发生不能接受的改变。但长时间控制所有样品的上述现象,结果可能成本高或无法实现,因此,重要的是要设计符合研究目标的保存条件。

值得注意的是,有些参数,比如一些挥发性物质的含量,无论何种保存条件,在保存后可能测不出,那么在这种情况下,从一开始就宜认真考虑未来对这些参数数据的需求,并据此调整相应的分析计划。

6 保存条件

6.1 概述

第6章所包含的一系列保存条件,应在设计保存方案时就确定。

6.2 光照

光照会影响某些物质的含量,特别是有机成分。对此应加以考虑和注意,比如使用棕色玻璃瓶或在完全黑暗条件下保存样品。

6.3 温度

温度的选择往往十分重要,因为温度会影响样品中生物的活性。因此,温度是设置保存设施时考虑的主要因素。在有些情况下,室温条件就可以了,但是在许多情况下,需要冷藏或冷冻来减弱生物活性。在特殊情况下,需要液氮保存。

有些样品宜考虑在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 甚至更低的温度下保存。例如,一些高质量的标样需要在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或更低一些的温度下保存,以便论证样品在低温下是否稳定。

6.4 湿度

除非温度足够低,否则湿度会引起土壤样品的微生物活性或化学性质的改变。所以,控制湿度十分重要。

如果样品不是保存在密闭的容器里,保存设施应常年维持低湿度。

如果使用密闭的容器,保存期间样品的湿度不会变化。此种情况下,应该确保样品的原始湿度足够低,以抑制微生物活性。

6.5 方便性、安全性、文档记录和质量控制

如果样品需要进行及时或重复的分析,保存设施宜方便实验室使用。这样会减少样品运送至实验室的时间和质量下降的风险。

安全问题同样重要,例如火灾、盗窃和破坏,特别是对于一些具有重大价值的样品。

文档记录(见 ISO 15903)、合适的标签以及防止交叉污染也是需要强调的安全问题。

采自受污染地区的土壤宜一直当成危险物,并进行相应的处理。

宜引入一个相关质量控制(QC)方案。可使用(认证)标样,或者使用当时一个或多个新鲜样分析结果来比较。

6.6 保存时间

所需的保存时间是保存条件的重要组成部分。如第 4 章中提到的,有些样品只保存几个星期(如常规的环境测试),有些则要保存很长时间。多年定期采集的、记录完整的长期“标准”土样能用于确定重要土壤性质的任何变化幅度。对保存时间,或许还有法律上的要求。

是否需要对样品进行长期保存,宜始终结合样品保存和文档记录的成本来评估。

6.7 保存容器和保存样品量

宜按材质、密封类型和大小仔细选择容器。宜对容器的相关性能进行确认,例如能保护样品免遭污染,并避免样品遭受光线和空气的影响。应遵循适当的清洁和消毒程序。

许多塑料容器 5 年~10 年后会变脆,所以首选玻璃容器。但是,如果样品含水量很高,如很多黏土样品经常出现的那样,冷冻时玻璃会崩裂。避免玻璃瓶装满能够减少冷冻崩裂的风险。

宜考虑需保存的样品量。所需样品量取决于计划的测试项目,而且可能难以计算。除非材料太贵或者再次分析的可能性很小,否则明智的做法是,使保存样品量足够多,以对所需样品量最多的参数进行至少 5 次测试。此外,为保证统一性,建议保存至少 50 g 样品。

土壤一旦被冻结,分样进行重复分析将十分困难,因此,需冷冻一些份量较少的分样。准备分样时应注意保证样品的均匀性。

6.8 保存土样使用前的处理

保存样品使用前的适当处理程序由保存条件和测试项目决定,不可能给出一个通用的规范。可考虑现有标准(如 ISO 11464)。

未冷冻的土壤样品长时间存放后,可发生颗粒的垂直方向再分配,建议在合适的混样器中对其进行重新混合。对于大样品,在混样器中进行重新混合可能不够充分。建议在一张塑料片上把样品铺开成一个薄层,再反复折叠和展开来混合样品。

对于冷冻样品,应限定解冻条件,因为这能影响生物参数、微生物参数和有机参数的测定。样品应在原来的塑料袋或容器中解冻。

7 分步骤方案

本标准基于一个简单的分步程序对保存和保存条件做出确凿的选择决定,这些条件在进行野外样品采集前就能确定。

步骤如下:

步骤 A 考虑进一步分析需求和保存期限(第 8 章)。

步骤 B 考虑当前与研究有关的参数(第 9 章)。

GB/T 32722—2016/ISO 18512:2007

- 步骤 C 考虑未来可能关注的参数(第 10 章)。
- 步骤 D 考虑保存条件对每个参数的可能影响(第 11 章)。
- 步骤 E 不改变土壤性质的保存条件的设计(第 12 章)。
- 步骤 F 设计文档记录和标签方案,包括样品管理(第 13 章)。
- 步骤 G 样品保存和文档记录的成本预算,以及这些成本与可用经费或预计经费的对比(第 14 章)。

8 步骤 A:考虑进一步分析需求和保存期限

如果无需进一步分析,可不必保存样品。需进一步分析的原因有多种。例如:

- 采样时,进行所有必需测试的条件不具备;
- 采样时,可能缺少进行所有必需测试的方法;
- 所选方法可能有不确定性,需做进一步分析;
- 可能存在进一步分析的法律要求;
- 需要考虑基于初期分析结果的扩展分析计划。

9 步骤 B:考虑当前与研究有关的参数

被关注的土壤性质理应是所采样品的研究项目的考虑内容。为了对保存条件做出合理的决定,重要的是仔细检查所列的有关参数。

通常宜优先考虑已有的 ISO 土壤标准参数。

10 步骤 C:考虑未来可能关注的参数

宜始终考虑后续研究添加新参数的可能性。

11 步骤 D:考虑保存条件对每个参数的可能影响

11.1 概述

考虑保存条件可能如何影响由步骤 B 和步骤 C 所确定的每个参数是关键步骤。如果参数的数目多,步骤 D 会耗时很长。在监测项目中,可能有 50 个甚至更多的参数。

强烈推荐像 11.3 和 11.4 那样对参数进行分组。

本标准目的不在于给出具体的信息来描述所有保存条件对所有可能参数造成的影响。下面列出的信息都基于普通需求。

由于研究少,对于长时间保存样品如何影响待测参数有时缺乏科学依据。一般的经验已经罗列在附录 A 的表 A.1 中。

11.2 土壤特性

11.2.1 电导率

土壤电导率是土壤含盐量的反映,随时间发生变化不大。

11.2.2 pH 值

风干或冷冻的土壤样品保存几年后,pH 值也不会变化。研究表明,样品在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的液氮中保存 6 个月,其 pH 值未见差异^[7]。

11.2.3 持水量

冷冻可能改变土壤的持水量。如果关注保存后样品的持水量,必须要重新测定。

11.2.4 结构稳定性

用于测量土壤结构稳定性的样品是不能冷冻的,因为冷冻会破坏土壤的结构。如果要求测定野外状态下的稳定性,样品甚至不能干燥。基于此,应迅速处理样品。

11.3 化学参数

11.3.1 金属和微量元素

若将风干样品装入玻璃容器,或用聚乙烯塑料袋密封再放入防尘的塑料容器中,那么在室温下可至少保存 7 年,随后用超强或强提取液进行提取,以测定大量营养素钾、镁、钙和微量元素砷、铍、镉、钴、铬、铜、汞、钼、镍、铅、钒和锌。超强或强提取液的示例是 Mehlich 2 和 Mehlich 3 提取剂、2 mol/L HNO_3 以及王水。湿润土壤上采集的样品冷藏 30 d,其 Cr(VI) 含量是稳定的。应考虑单质态或挥发化合物态汞损失的风险。

当采用弱提取液(如 0.01 mol/L CaCl_2)时,应冷藏土壤样品以保证其长时间稳定。在温度升高条件下保存时,发现一些可提取态养分浓度发生变化^[3]。

11.3.2 全氮和含氮化合物

氮素在土壤中以无机态(主要是硝酸盐和铵离子),以及作为有机化合物的有机态出现,其中有些作为土壤微生物生物量的一部分。当用保存的土壤样品测定氮和含氮化合物时,这些形态之间的动态转化是主要问题。影响此转化的最重要因素是土壤生物活性,而这又取决于土壤的通气性、温度和湿度。这些参数在采样、运输、样品处理等环节均可发生变化,而测得的某个形态氮的浓度可能与采样地的实际浓度无关。要降低无机态氮素变化的风险,宜将土壤样品冷冻保存。

在土温 4 °C 以下采集的样品可在运回实验室后立即分析,也可以在不高于 4 °C 的冰箱中最长保存 7 d 后分析,或在低于 -18 °C 的条件下保存不超过 6 周后分析。尤其是分析铵态氮,要尽快将样品温度降到 4 °C 以下。在英国洛桑试验站保存长达 69 年的风干土样中,未观察到其全氮含量有显著变化。

针对上述两种形态无机氮,干燥态土样的保存时间是不同的。对于硝态氮,室温下密闭聚乙烯袋中保存至少 25 周的样品未见变化,而对于铵态氮,土样保存 6 周之内的样品未见变化^[8]。

根据 ISO/TS 14256-1,采用氯化钾溶液提取法测定田间湿润土壤的硝酸盐、亚硝酸盐和铵盐,如果在 3 d 内完成分析,样品可冷藏保存。如果需要保存更久,则样品宜冷冻保存。

采用风干或其他方法干燥样品,在一段时间内潮湿的土壤样品仍将保持适宜微生物活动的最佳温度。这将导致硝态氮和铵态氮含量的显著增加。样品干燥的温度越高,测得的铵态氮浓度也会越高。低于 4 °C 保存或于 105 °C 干燥时,样品中硝态氮含量不会发生变化。如果铵形态的贡献可忽略,样品分析前可在高于 105 °C 条件下干燥,而不会影响硝态氮含量。

11.3.3 全磷和含磷化合物

使用超强和强提取液提取来测定磷时(例如用 Mehlich 2 和 Mehlich 3^[6] 提取剂、2 mol/L HNO_3 、王水),倘若将风干分样本装入玻璃容器保存,或用聚乙烯塑料袋密封再放入防尘的塑料容器中,研究发现其在室温下可至少保存 7 年。

11.3.4 其他无机参数(氯化物、硫酸盐、氟化物、氰化物、硫化物)

总的来说,这些无机参数长时间内相当稳定。由于硫化物会与空气反应形成硫酸盐,用于测定硫化物的样品应隔绝空气保存。

德国环境标本库的分析表明,冷冻样品($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、液氮)和 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存的对照样品经过 6 个月的短期保存^[7]后,它们的磷酸盐、硫酸盐和氯化物含量无显著差异。

11.3.5 挥发性和半挥发性有机物质

ISO 14507 和 ISO 15009 给出了用于测定挥发性和半挥发性有机物质的样品的采集与预处理的一般说明。

用于测定挥发性和半挥发性有机物质的土壤样品是很难保存的。完全密封的容器可能非常昂贵,或者可能根本不存在。而且,即使在一个密闭的样品容器里,挥发性物质也可能会挥发,因为如果土壤样品未用水或其他液体饱和,那么土壤颗粒间将存在孔隙。因此,一般建议采样后尽早对这些物质进行分析,并避免保存。

若不得不保存样品,则应使用让挥发性和半挥发性有机物质无法穿透的材料制作的容器。容器宜被设计成为可完全密封和安全打开的样式。宜填满容器使顶部空间最小。宜始终考虑采用低温保存样品,以减小蒸汽压。将样品浸没在某种溶剂里,如甲醇(参见 ISO 22155),会减少挥发性分析物的损失,这样即使在室温下,样品也可在密封的瓶子里在暗处保存大约 10 d,否则,在几天之内将会发生损失。浸没还将同时消除生物活性。

野外采样时可使用一个小的土芯取样器来实施浸没样品的操作,如图 1 中所示范例。取样器的外径应小于广口螺旋盖瓶的瓶口。样品瓶大约 100 mL。瓶的螺旋盖应有一个由聚四氟乙烯(PTFE)材料涂覆的隔膜状内衬。瓶口、瓶颈和瓶子的螺纹处都应保持彻底的清洁,不带任何颗粒。将土芯立即浸没在含有大量已知溶剂的样品瓶中。25 g~50 g 土壤样品量,宜使用 25 mL~50 mL 甲醇。在浸没前土芯要隔绝空气。

挥发性有机化合物的性状是处理土壤物质的一个严格限制因素。实验室或野外都不应进行混合、分样和筛分。从采集的全样中后来再取出部分土样进行再分析是不可能的。为日后分析所保存的样品,应该是在每个采样地采集足够数量的独立样品。另一种可选择方案是,在控制条件下保存样品提取物。混合样只能通过在一个瓶子中合并几个独立的芯样,或者通过混合几个等分的有机提取物而制备。

警告:切记许多挥发性物质是有毒的。

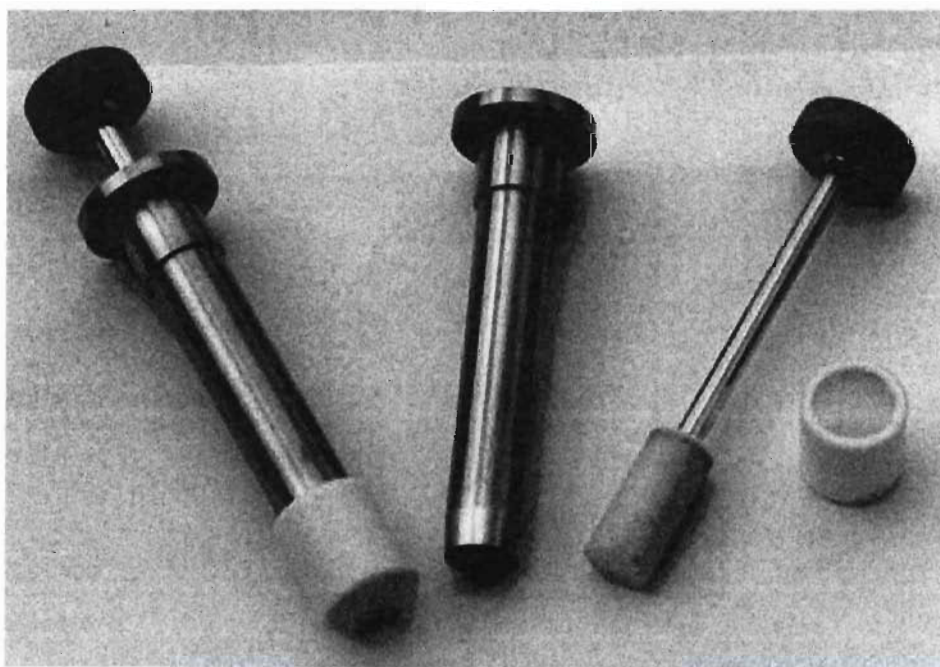


图 1 配有聚四氟乙烯助推塞的金属土芯取样器,用于采集含挥发性有机物土样(Berghof, Tübingen 公司)

11.3.6 非挥发性有机物

土壤样品中含有的非挥发性有机物比较稳定。这些化合物的沸点一般都超过 300 ℃,它们中的大部分被认为在环境中具有持久性。然而这些物质很多都受到土壤生物活性的影响。因此,长期保存宜始终考虑冷冻保存。

进行非挥发性有机物分析时,推荐使用由玻璃、聚四氟乙烯制成的容器,或是由不锈钢制成、配备聚四氟乙烯材质或聚四氟乙烯内衬杯子的容器。分析前宜在暗处冷藏保存。

11.4 生物学检验

生物学检验可分为微生物学和生物化学检验、土壤动物检验、植物检验、生物降解检验,以及土壤和土壤材料的生态毒理特性检验。这些检验方法对土壤保存条件的要求差异很大,而且取决于生物有机体和待测参数。

11.4.1 微生物学检验

土壤保存条件的选择对微生物学检验非常重要,因为土壤活性微生物菌群随保存时间延长而减少,即便处于低温亦如此。菌群减少速度取决于土壤和菌群的组成。如需更详细的信息,请参阅最新版本的 ISO 10381-6。

通常来说,用作实验室微生物分析的样品宜在方便筛分的土壤含水量条件下进行野外采集。采样后宜尽快在实验室内对土样进行处理(筛分)。如果不关注厌氧现象,样品宜在黑暗、冷藏、通气的条件下保存。最好采样后尽快分析,如果不得不保存,不宜超过 3 个月,除非有证据表明仍有微生物活性。

如果土壤样品必须保存 3 个月以上,则样品宜用冷冻或更低的温度(−80 ℃或−150 ℃)保存,虽然一般不建议这样做。已有研究表明,一些温带土壤样品在−20 ℃下保存 12 个月,不会抑制微生物活性(例如:铵氧化)。此外,用于分析磷脂脂肪酸(PLFA)和 DNA 的土壤样品在−20 ℃下能保存 1 年~2 年。用于 rRNA 分析的样品,如果在−180 ℃下对其进行急速冷冻后(利用液氮使其急速冷冻),可在−80 ℃下保存相同的时间。

主要在两种情况下,样品需要保存更长时间:用相同的土壤材料检验外加污染物对土壤微生物和微生物过程的影响,或在一年中的特定时间点评价土壤微生物的群落结构^[2](PLFA、DNA、RNA)。这些情况下,分析所需时间容易超过 3 个月(化学、污染物测试)。用于以上研究的样品建议低于 4 ℃保存。

冷冻保存的样品应特别注意样品的解冻。冷冻和解冻的循环会增加有机物质对微生物的有效性^[2]。分析微生物活性(例如:土壤呼吸作用),推荐冷藏解冻 1 d,然后室温下保温 3 d。

通常不建议用干燥的土壤进行生物学检验。已有研究表明,干湿交替会导致微生物碳与氮动态的显著变化,并且在最终胁迫发生后,这些变化可持续超过 1 个月^[1]。干燥后再湿润会引起土壤呼吸作用的骤增以及不同菌群数量的增长^[5]。

11.4.2 生物降解检验

当检验有机化学物在土壤中的生物降解性能时(ISO 11266、ISO 15473),尽可能不保存土壤,因为土壤微生物活性在保存期间会下降。土壤样品允许冷藏保存 3 个月。测定化合物的厌氧分解,宜隔绝氧气保存。

11.4.3 土壤和土壤材料的生态毒理学检验

有关用于土壤动物和高等植物学检验的土壤样品保存,ISO 15799 没有具体建议。用于土壤动物检验的土壤样品,推荐使用与微生物和微生物过程检验同样的保存条件。这样做的理由是污染物的可利用性和有效性基本上取决于微生物活性。植物检验亦如此。另外,宜考虑待测土壤的营养供应能力,

特别是当测试未知污染土壤时,以避免假阴性结果。

通常过筛后的样品应在黑暗条件下保存。用于土壤微生物分析的土壤或土壤材料的处理参照 11.4.1 的方法。对于陆栖类的分析(例如:植物检验、蚯蚓检测),样品可冷藏保存约 3 个月。

用做稀释物或基准介质的风干土壤可在室温下长期保存。

测试土壤和土壤材料的淋失潜力/保持性能,宜在筛分土壤样品后立即制备用于水特性实验的水提取物。如果不能在 10 d 内完成分析(水提取物在暗处冷藏保存),宜重新制备提取物。

12 步骤 E:不改变土壤性质的保存条件的设计

上述步骤为各参数考虑的土壤保存条件宜汇总成一个样品保存条件设计方案。如果保存条件发生冲突,也许有必要在不同条件下保存两个或多个分样。

13 步骤 F:设计文档记录和标签方案(含样品管理)

由于样品可保存很多年,应在最初就考虑如何记录样品信息和如何管理样品,以维持监管链。样品的初始信息,推荐使用有关记录土壤和采样地信息的国际标准(ISO 15903)。宜添加每个样品的相关历史和处理信息。上述信息可能涉及样品地点的转移或分样分析。决定如何保存文档也同样重要。

标签劣化可能导致严重后果。把标签放在容器内,土壤可能破坏标签。粘贴在容器外的标签也许会脱落。建议同时在容器的外面和盖子上油印、压印或雕刻上参考编号或代码。

14 步骤 G:保存和文档记录的成本预算以及上述成本与可用经费或预计经费的对比

当设计好理想的保存条件后,建议尽可能详细地对保存和文档记录的成本进行预算,并将上述预算的成本和可用经费或预计经费进行对比。

如果成本超过了可用经费或预计经费,应该在研究计划中进行一些改变,例如对进一步分析的需要和保存时间进行再次评估,或一起重新考虑进一步分析的需要。其结果宜和用户讨论,以确定最优的解决办法。

15 检验报告

分析保存后土壤的检验报告宜包括对所用保存条件的描述。

附 录 A
(规范性附录)
土壤样品的保存

表 A.1 不同条件下土壤的最长保存期——物理和化学检验目标

检验目标	参照的 国际标准	干燥 室温	干燥 4 ℃	潮湿 4 ℃ ^a	潮湿 -18 ℃	潮湿 -80 ℃	参照的本 标准条款号
土壤特性							
电导率	ISO 11265	3 y	3 y	1 w	10 y ^b	10 y ^b	11.2.1
pH 值	ISO 10390	3 y	3 y	1 w	10 y ^b	10 y ^b	11.2.2
无机参数							
重金属 ^c ——全量 ——活性量	ISO 11466	30 y ^b 1 y	30 y ^b 3 y	6 m ^b 1 m	10 y ^b ne	30 y ^b ne	11.3.1
汞(挥发性的)		—	—	4 d	ne	ne	11.3.1
Cr(VI)	EN 15192	ne	ne	30 d	ne	ne	
大量元素 全量: ——磷(P)、钾(K)、钙(Ca)、镁(Mg) ——氮(N) 有效态: ——磷(P) ——钾(K)、钙(Ca)、镁(Mg) ——无机氮(N _{min})	ISO 11261 ISO 13878 ISO 11263 ISO 14255 ISO 14256	30 y 30 y 3 y 3 y —	30 y 30 y 1 m 1 m —	ne 1 m 1 w 1 w 1 w	10 y ^b 10 y ^b 10 y 10 y 5 w	30 y ^b 30 y ^b 30 y ^b 10 y ^b 10 y ^b	11.3.1~11.3.3
阴离子 ——氟(F)、氯(Cl)、溴(Br) ——硫酸根(SO ₄)	ISO 11048	3 y 3 y	3 y 3 y	1 m 1 m	10 y ^b 10 y ^b	10 y ^b 10 y ^b	11.3.4
有机参数							
氯酚	ISO 14154	—	—	4 d ^d	ne	ne	
可提取态有机卤化物(EOX)		ne	ne	1 w 1 m ^e	ne	ne	
腐殖质、有机碳(C _{org})	ISO 10694	3 y	3 y	1 m	3 y	10 y ^b	
卤代烃、高挥发性的	ISO 10301	—	—	4 d 1 m ^f	4 d 1 m ^f	ne	11.3.5
烃类、C10—C40	ISO 16703	ne	ne	1 w 1 m ^e	1 m	ne	11.3.6
有机氯农药和多氯联苯(PCB)	ISO 10382	—	—	1 m	6 m	ne	11.3.6
有机氮农药		—	—	1 w	ne	ne	11.3.6
有机磷农药		—	—	1 w	ne	ne	11.3.6

表 A.1 (续)

检验目标	参照的 国际标准	干燥 室温	干燥 4℃	潮湿 4℃ ^a	潮湿 -18℃	潮湿 -80℃	参照的本 标准条款号
多环芳烃(PAH)	ISO 13877	—	—	2 w ^g 1 m ^f	6 m	ne	11.3.5 11.3.6
多氯二苯并二噁英(PCDD)/多氯 二苯并呋喃(PCDF)		3 m~6 m	3 m~6 m	1 y	10 y	10 y	
挥发性有机化合物(VOC)	ISO 22155 ISO 15009	—	—	4 d 1 m ^f	1 w 1 m ^f	ne	11.3.5
有机和无机测试目标							
淋溶							
——污染物释放		3 y	3 y	1 m	1 y ^b	10 y ^b	
——土柱试验		3 y	3 y	1 m	1 y ^b	10 y ^b	
——溶解有机物(DOM)		1 y	3y	1 m	3 y	10 y ^b	
^a 冷藏潮湿土样的短期保存时间反映了在这些条件下生物活性可能会改变的风险。 ^b 专家观点:未经实验证实。 ^c 对于汞元素,推荐的这些保存时间仅适用于非挥发性的汞化合物。 ^d 如果样品需要保存 2 d 以上,ISO 14154 推荐冷冻样品。 ^e 如 ISO 145007 所描述的,经过硫酸钠(Na ₂ SO ₄)化学干燥后。 ^f 保存在甲醇中的时间。 ^g 已经表明,萘在给定时间内有时会分解。因此,需要分析萘的土样应该通过添加溶剂或化学干燥处理在 4 d 之内保持稳定。							
符号	缩写						
ne	无经验						
—	不可能保存						
d	天						
w	星期						
m	月						
y	年						
	DOM: 溶解性有机物						
	EOX: 可提取态有机卤化物						
	PAH: 多环芳烃						
	PCB: 多氯联苯						
	PCDD/PCDF: 多氯二苯并二噁英/多氯二苯并呋喃						
	VOC: 挥发性有机化合物						

表 A.2 不同条件下土壤的最长保存期——生物检验目标

检验目标	参照的 国际标准	干燥 室温	干燥 4℃	潮湿 4℃ ^a	潮湿 -18℃	潮湿 -80℃	参照的本 标准条款号
铵氧化	ISO 15685	—	—	3 m	1 y	ne	11.4.1
生物降解							11.4.2
——有氧的	ISO 11266	—	—	3 m	ne	ne	
——厌氧的	ISO 15473	—	—	3 m ^b	ne	ne	
生物量							11.4.1
——底物诱导呼吸法	ISO 14240-1	—	—	3 m	1 y	ne	
——熏蒸提取法	ISO 14240-1	—	—	3 m	1 y	ne	

表 A.2 (续)

检验目标	参照的 国际标准	干燥 室温	干燥 4 ℃	潮湿 4 ℃ ^a	潮湿 -18 ℃	潮湿 -80 ℃	参照的本 标准条款号
脱氢酶活性	ISO 23753-1 ISO 23753-2	—	—	3 m	1 y	ne	11.4.1
脱氧核糖核酸(DNA) ^c		—	—	3 m ^d	1 y~2 y	ne	11.4.1
微生物土壤呼吸	ISO 16072	—	—	3 m	1 y	ne	11.4.1
氮素矿化	ISO 14238	—	—	3 m	1 y	ne	11.4.1
植物检验	ISO 11268-1, ISO 11268-2, ISO 22030	ne	ne	3 m	1 y	ne	11.4.3
磷脂脂肪酸(PLFA) ^c		—	—	3 m ^d	1 y~2 y	ne	11.4.1
核糖核酸(RNA) ^c		—	—	ne	6 m~8 m	2 y~4 y	11.4.1
土壤动物 ——蚯蚓	ISO 11268-1, ISO 11268-2	—	—	3 m	1 y	ne	11.4.3
——弹尾目	ISO 11267	—	—	3 m	1 y	ne	
——线蚓	ISO 16387	—	—	3 m	1 y	ne	
——昆虫幼虫	ISO 20963	—	—	3 m	1 y	ne	
——蜗牛	ISO 15952	—	—	3 m	1 y	ne	
土壤呼吸曲线	ISO 17155	—	—	3 m	1 y	ne	11.4.1
土壤用作稀释物或基准介质	ISO 15799	un	un	ne	ne	ne	11.4.3
^a 冷藏潮湿土样的保存期短反映了在这些条件下生物活性可能会改变的风险。 ^b 仅用于测定有氧土壤中化学物质的厌氧分解性能;对于缺氧土壤的保存没有说明。 ^c 在保存之前这些土壤应分成几份子样,以备将来的测试使用。或者,宜在采集田间湿润土样(<2 mm)后立即从中提取磷脂脂肪酸。在进一步采用色谱/质谱分离和分析之前,这些提取物可以在-20 ℃下保存数月。 ^d 专家观点;未经实验证实。 ^e 在-20 ℃或-80 ℃保存之前建议采用液氮急速冷冻。							
符号	缩写						
ne 无经验	PFLA: 磷脂脂肪酸						
— 不可能保存							
d 天							
w 星期							
m 月							
y 年							
un 没有限制							

参 考 文 献

- [1] Fierer, N. and Schimel, J. P. (2002): Effect of drying-rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biology and Biochemistry*. 34: pp. 777-787.
- [2] Haynes, R. J. and Beare, M. H. (1996): Aggregation and organic matter storage in meso-thermal, humid soils. In: Carter, M. R. and Stewart, B. A. (Eds) *Soil structure and organic matter storage in agricultural soils*. CRC/Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 213-262.
- [3] Houba, V. J. G. and Novozamsky, I. Influence of storage time and temperature of air-dried soils on pH and extractable nutrients using 0.01 mol/L CaCl₂. *Fresenius' journal of analytical chemistry*. 1998, 360, pp. 362-365.
- [4] Lickfett, T., Merkel, D., von Horstein, D., Przemeck, E., Lucke, W. (1996): Konservierung von Nmin-Proben durch Mikrowellentrocknung? *Agrobiol. Res.* 49, 169-178 (in German).
- [5] Lund, V. and Goksøyr J. (1980): Effects of water fluctuations on microbial mass and activity in soil. *Microbial Ecol.* 6: pp. 115-123.
- [6] Mehlich, A. (1984). Mehlich 3 soil test extractant; A modification of Mehlich 2 extractant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15: pp. 1409-1416.
- [7] Weinfurtner, K., Dreher, P., Hund-Rinke, K., Kördel, W., Scheid, S., Simon, M. (2002): Methodische Weiterentwicklung der Probenrichtlinie für Böden im Rahmen der Umweltprobenbank des Bundes. Abschlussbericht UBA, FKZ; 301 02 006.
- [8] Zbiral, J. and Nenec, P. The influence of the sample treatment on the determination of the nitrate and ammonium forms of nitrogen. *Bulletin of the Laboratory Division*, 1998, volume II, issue I (in Czech).
- [9] ISO 10381-1 Soil quality—Sampling—Part 1: Guidance on the design of sampling programmes.
- [10] ISO 10381-2 Soil quality—Sampling—Part 2: Guidance on sampling techniques.
- [11] ISO 10381-3 Soil quality—Sampling—Part 3: Guidance on safety.
- [12] ISO 10381-4 Soil quality—Sampling—Part 4: Guidance on the procedure for investigation of natural, near-natural and cultivated sites.
- [13] ISO 11464 Soil quality—Pretreatment of samples for physico-chemical analysis.
-