

# 国家标准

## 《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》

Determination of amino sugars in soil by gas chromatography

# 编制说明

(征求意见稿)

《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》国家标准起草工作组

二〇二四年八月

项目名称：土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法

计划编号：20232486-T-326

项目负责单位：中国科学院沈阳应用生态研究所

项目负责人：张威

技术委员会：全国土壤质量标准化技术委员会（SAC/TC 404）

# 目录

1. 工作简况.....	3
1.1 任务来源.....	3
1.2 制定背景.....	3
1.3 起草过程.....	4
2. 国家标准编制原则、主要内容及其确定依据.....	5
2.1 编制原则.....	5
2.2 主要内容.....	6
2.3 确定依据.....	6
3. 试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益.....	6
3.1 验证方案.....	6
3.2 验证样品的选择.....	7
3.3 方法检出限及定量限.....	7
3.4 方法的精密度.....	8
3.5 方法的回收率.....	9
3.6 方法的线性范围.....	10
3.7 技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益.....	11
4. 与国际、国外同类标准技术内容的对比情况.....	11
5. 以国际标准为基础的起草情况.....	11
6. 与有关法律、行政法规及相关标准的关系.....	11
7. 重大分歧意见的处理经过和依据.....	11
8. 涉及专利的有关说明.....	11
9. 实施国家标准的要求及措施建议.....	11
10. 其他应当说明的事项.....	11

## 1. 工作简况

### 1.1 任务来源

2023年12月29日国家标准化管理委员会发布了《国家标准化管理委员会关于下达碳达峰碳中和国家标准专项计划及相关标准外文版计划的通知》（国标委发〔2023〕67号），其中《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》获得批准成为2023年度国家标准制订计划项目，计划编号20232486-T-326，主管部门为农业农村部，技术归口单位为全国土壤质量标准化技术委员会，主要起草单位为中国科学院沈阳应用生态所，兰州大学，沈阳农业大学。

### 1.2 制定背景

土壤作为陆地生态系统最大的碳库，其有机碳储量远高于大气和陆地植被，土壤碳收支的微小变化会显著影响大气碳浓度。土壤碳汇功能的提升是缓解全球气候变化和粮食安全等问题的关键。

微生物是驱动土壤碳元素生物地球化学循环的引擎，在有机碳转化过程中发挥着重要作用。微生物可通过矿化作用将有机碳分解并释放CO<sub>2</sub>至大气中，也能通过同化作用将有机碳转化为自身组分，并在其死亡后以微生物残体的形态在土壤中积累。近年来，微生物碳泵理论，明确了微生物在土壤有机质转化及固存中的核心作用，土壤微生物经“体内周转”途径、以微生物群落生长死亡迭代过程为驱动力持续生成微生物残留物，正向贡献了土壤碳库的形成。因此，以土壤微生物残留物为核心的土壤碳循环研究逐渐得到了学术界的关注和广泛认可。

土壤微生物残留物标识物主要用氨基糖来表征。氨基糖是土壤微生物细胞壁的组成物质，在微生物细胞死亡后能够稳定存在于土壤基质中，可为微生物残体的积累动态提供有效的指示作用。Zhang和Amelung于1996年首次建立了定量测定土壤氨基糖（微生物残留物标识物）的气相色谱技术，在国际上率先开展了以微生物残留物表征的微生物过程的研究工作。依据于Zhang和Amelung的技术，目前土壤中有四种氨基糖可被提取并量化，包括氨基葡萄糖、氨基半乳糖、氨基甘露糖和胞壁酸。其中，土壤中的胞壁酸唯一来源于细菌细胞壁的肽聚糖层，氨基葡萄糖主要来源于真菌细胞壁，氨基半乳糖一般认为大部分来源于细菌，但是仍有相当一部分来源具有不确定性。氨基甘露糖由于其来源不明确，且含量低，很多文章均未进行报道。基于土壤氨基糖的异源性，微生物群落中优势菌群（主要是真菌和细菌）的变化能够通过其代谢残体的数量和比例变化影响土壤有机碳

（土壤有机质）的积累。通常用氨基葡萄糖与氨基半乳糖的比例以及氨基葡萄糖与胞壁酸的比例来表征不同微生物残留物（真菌与细菌）在土壤有机碳（土壤有机质）积累和养分循环中的相对贡献，因此，氨基糖的定量分析对于阐明微生物在调控土壤有机碳（土壤有机质）转化及持续固碳过程中的作用具有独特的意义和优势。

尽管编制组团队已经将土壤氨基糖的定量分析技术发表于土壤学顶级期刊《Soil Biology and Biochemistry》上（Zhang 和 Amelung, 1996）。但是，总体来看，土壤氨基糖的测定无论是提取、纯化还是衍生，其操作过程均比较复杂，极大地限制了土壤氨基糖测定结果的准确性，影响了以土壤微生物残留物为核心的土壤碳循环过程的正确评估。为了准确地测定土壤氨基糖含量，加强科学交流，增进数据共享，促进土壤生物与生物化学学科发展，编制组团队有必要对土壤氨基糖测定方法的操作流程进行统一和规范，因此，建立《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》的国家标准十分必要。

### 1.3 起草过程

#### 1.3.1 成立标准编制组

项目立项后，2024年1月项目承担单位立即成立了标准编制组，由项目负责人担任编制组组长，集合相关骨干人员，对该标准项目进行人员分配和责任分工，并完成了标准项目任务书的填报，编制组成员中包括有分析工作经验和标准修订制工作经验的同志。主要起草人分工如下：

张威为主要起草人，负责方案制定、技术参数确定以及标准条款及编制说明编写等工作。

何红波、张旭东、梁超为技术顾问，负责方案制定等工作。

周锋、袁磊主要负责验证土壤样品采集与制备等工作。

解宏图、鲍雪莲主要负责标准资料收集和查询等工作。

邓芳博、朱雪峰、郑甜甜、杨雅丽、马田、安婷婷、孙良杰主要负责分析方法试验、验证及比对结果统计等工作。

#### 1.3.2 起草及试验阶段

2021年2月，按下发的《国家标准化管理委员会关于下达碳达峰碳中和国家标准专项计划及相关标准外文版计划的通知》，标准编制组根据收集的资料修改和完善预研阶段的标准草案，形成工作组讨论稿初稿。

2024年3月至5月，组织参加标准验证的5家单位（中国科学院沈阳应用生态研究所，兰州大学，沈阳农业大学，复旦大学，鲁东大学）进行实验室间比对试验，验证本标准采取的分析方法。

2024年5月至7月，通过比对试验的测试结果和试验期间收集到的各验证单位的反馈信息，认真分析了比对样品测试过程中出现的问题，寻找解决办法。对工作组讨论稿初稿细节进行线上讨论和优化。

2024年8月，在中国科学院沈阳应用生态研究所召开了由编制组成员参加的讨论会，邀请了相关专家，讨论了《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》讨论稿。

2024年8月，根据研讨会形成的结论修改了《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》讨论稿和编写了《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》讨论稿编制说明，重点对标准方法中的格式、语言和标点符号进行编辑性修改，对编制说明的格式和内容进行了调整与修改，形成标准工作组讨论的最终稿和征求意见稿。

2024年8月，起草组将标准工作组讨论通过的《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》征求意见稿和编制说明提交全国土壤质量标准化技术委员会审定。

### 1.3.3 征求意见阶段

为进一步提高标准的科学性、适用性以及可操作性，拟于2024年9月至10月，标准编制组就《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》征求意见稿及编制说明进行征求意见。

## 2. 国家标准编制原则、主要内容及其确定依据

### 2.1 编制原则

**目标明确：**标准编订的目的是建立一种用气相色谱仪测定土壤中氨基糖含量的标准方法，用于解析微生物在土壤有机碳积累和养分循环中的相对贡献，借此研究和阐明微生物在调控土壤有机质转化及持续固碳过程中的作用。

**可操作性强：**标准采用的测定方法原理简单、操作简便易行，具有普适性和通用性。

**科学性可靠：**内容上参考国外已发表土壤氨基糖含量测定的文献，并结合实验室实际测试情况，作了一定的修改，确保标准采用的方法具有科学性和先

进性。

## 2.2 主要内容

按照我国标准方法编制的规范，本标准涉及的主要内容包括：范围、规范性引用文件、术语和定义、方法原理、试剂与材料、仪器设备、样品、试验步骤、色谱参考条件、试验数据处理、精密度、质量保证和控制和试验报告，具体内容请参考标准工作组编写的《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》的征求意见稿。

## 2.3 确定依据

本标准技术依据于Zhang和Amelung于1996年建立的定量测定土壤氨基糖（微生物残留物标识物）的气相色谱技术，该技术发表于土壤学顶级期刊《Soil Biology and Biochemistry》上（Zhang和Amelung, 1996），该技术能测定土壤中4种氨基糖（氨基葡萄糖、氨基半乳糖、氨基甘露糖和胞壁酸）。由于土壤中氨基甘露糖含量低，且其在土壤中的来源不明确，限制了其在国内外关于土壤氨基糖研究中的应用。目前，国内外研究主要涉及土壤中3种氨基糖（氨基葡萄糖、氨基半乳糖和胞壁酸），因此，本标准方法主要测定土壤中3种氨基糖（氨基葡萄糖、氨基半乳糖和胞壁酸）的含量。根据Zhang和Amelung（1996）的方法，本标准中土壤3种氨基糖（氨基葡萄糖、氨基半乳糖和胞壁酸）经盐酸水解，一系列纯化和衍生后，利用毛细管气相色谱柱对3种氨基糖进行分离，而后使用含有氢火焰离子化检测器的气相色谱仪（GC-FID）进行测定，采用内标法进行定量。标准编制组通过试验验证明确了本标准中土壤氨基糖含量的测定方法，确定标准文本内容。

## 3. 试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

### 3.1 验证方案

方法的验证要求参加单位严格按照工作组初稿中规定的方法草案测定项目组制备的9个待测样品中氨基糖含量。每个样品重复测定3~6次。待参加单位完成验证试验后，通过汇集全部比对结果，计算本标准采用方法的精密度和准确度（加标回收率）。

### 3.2 验证样品的选择

根据方法的适用范围，同时考虑全国土壤分类，土壤酸碱度，及土壤氨基糖含量覆盖范围，项目组分别选取了全国 9 个地区的土壤样品，进行采集、风干、筛分、研磨，样本的详细情况请见表 1。

表 1 土壤样品信息

样品编号	采样地点	土壤类型	酸碱度	研磨方式
1	江西鹰潭	红壤	4.84	人工研磨过 100 目筛
2	吉林白山	棕色针叶林土	5.15	
3	辽宁阜新	褐土	5.18	
4	黑龙江海伦	黑土	5.65	
5	辽宁沈阳	棕壤	6.26	
6	吉林四平	黑钙土	7.16	
7	内蒙古通辽	风沙土	7.90	
8	河北石家庄	潮土	8.28	
9	陕西杨凌	娄土	8.30	

### 3.3 方法检出限及定量限

参照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）的要求，以产生仪器信噪比 2~5 倍响应值所对应浓度（含量）的样品进行重复 7 次平行测定，计算测定结果的标准偏差，并以 4 倍的检出限作为方法的定量限。按照公式（1）计算方法检出限。

$$MDL=t_{(n-1,0.99)}\times S \quad (1)$$

式中：

MDL—方法检出限；

n—样品的平行测定次数；

t—自由度为 n-1，置信度为 99%时的 t 分布（单侧）；

S—n 次平行测定标准偏差。

其中，当自由度为 n-1，置信度为 99%时的 t 值可参考表 2 取值。



表 2 t 值表

平行测定次数 (n)	自由度 (n-1)	t (n-1, 0.99)
7	6	3.143
8	7	2.998
9	8	2.896
10	9	2.821
11	10	2.764
16	15	2.602
21	20	2.528

方法检出限及定量限见表 3。

表 3 方法的检出限和定量限

目标化合物名称	测定结果 (μg)							平均值 (μg)	标准偏差 (μg)	检出限 (μg)	定量限 (μg)
	1	2	3	4	5	6	7				
氨基葡萄糖	46.53	45.43	45.94	44.94	45.90	45.43	45.99	45.74	0.51	1.61	6.44
氨基半乳糖	44.62	44.28	44.77	43.10	45.39	44.28	44.10	44.36	0.70	2.21	8.84
胞壁酸	41.83	41.86	42.33	40.40	40.53	41.86	41.34	41.45	0.73	2.30	9.20

### 3.4 方法的精密度

5 家实验室采用此方法对 9 种不同地区的土壤样品进行了 3~6 次重复测定, 根据 HJ 168-2020 计算, 得出此方法实验内和实验室间的精密度。其中氨基葡萄糖, 氨基半乳糖和胞壁酸的实验室内相对标准偏差范围分别为 0.73~7.94%, 1.48~7.97%, 1.02~7.68%; 氨基葡萄糖, 氨基半乳糖和胞壁酸的实验室间相对标准偏差范围分别为 4.55~11.45%, 7.14~13.39%, 5.25~14.57%。表明该方法具有较好的精密度, 具体结果见表 4。

表 4 实验内和实验室间的精密度

化合物名称	样品	实验室内平均值					实验室间平均值	实验室内相对标准偏差	实验室间相对标准偏差
		mg/kg					mg/kg	%	%
氨基葡萄糖	1	308.4	324.9	392.9	324.9	323.0	334.8	2.52~6.85	9.92
	2	2160.0	2310.2	2463.4	2319.2	2375.9	2325.7	0.73~5.53	4.77
	3	526.9	649.7	603.9	650.4	608.3	607.8	3.27~5.19	8.27
	4	907.3	1103.9	1030.7	1119.6	1037.3	1039.8	2.40~7.93	8.07
	5	466.6	491.4	507.4	536.7	474.8	495.4	1.35~5.89	5.64
	6	554.0	648.3	652.1	643.6	732.9	646.2	1.29~6.19	9.81
	7	286.0	314.8	309.4	322.4	301.5	306.8	2.08~6.78	4.55

	8	457.0	501.1	453.8	555.7	412.4	476.0	3.22~7.16	11.45
	9	296.1	279.2	261.8	334.8	291.6	292.7	3.07~7.94	9.23
氨基半乳糖	1	120.3	114.4	137.2	120.8	103.8	119.3	4.09~7.45	10.19
	2	1133.9	1125.7	1114.7	940.9	1011.8	1065.4	4.31~7.58	8.01
	3	213.1	273.6	243.6	220.1	214.0	232.9	4.98~7.55	11.13
	4	528.2	595.4	525.9	551.2	482.9	536.7	2.78~7.90	7.65
	5	204.0	214.6	223.6	223.4	177.7	208.6	4.04~7.94	9.15
	6	281.1	344.5	355.7	326.9	367.0	335.0	1.48~7.57	10.02
	7	135.5	149.4	140.4	143.1	123.1	138.3	3.46~7.97	7.14
	8	222.4	231.3	220.3	291.3	219.3	236.9	3.26~7.40	12.98
	9	126.4	120.8	117.9	161.5	129.2	131.2	5.42~7.90	13.39
胞壁酸	1	25.7	25.4	28.2	27.6	21.7	25.7	1.69~5.97	9.84
	2	105.5	143.9	134.5	117.7	115.4	123.4	3.13~7.08	12.55
	3	27.3	27.0	36.3	27.8	27.8	29.3	2.00~7.21	13.54
	4	49.1	63.5	55.5	52.8	54.8	55.1	3.44~6.78	9.6
	5	15.4	20.8	20.3	22.9	21.6	20.2	4.57~7.54	14.22
	6	24.3	29.0	23.4	28.2	32.6	27.5	3.23~7.56	13.53
	7	11.2	15.1	11.0	14.3	13.5	13.0	2.19~7.36	13.94
	8	14.0	16.9	14.9	15.8	11.3	14.6	4.19~7.29	14.57
	9	13.9	13.8	12.3	12.7	13.5	13.3	1.02~7.68	5.25

### 3.5 方法的回收率

向 9 种土壤样品中分别加入目标化合物(氨基葡萄糖,氨基半乳糖,胞壁酸)的标准物质,标准物质的加标量为土壤样品中待测物含量的 0.5~1.5 倍。进行 6 次重复测定,氨基葡萄糖的回收率范围为 87.1%~103.9%,氨基半乳糖的回收率范围为 82.6%~103.6%,胞壁酸的回收率范围为 90.6%~103.9%,表明该方法准确度高,具体结果见表 5。

表 5 土壤加标回收率

目标化合物名称	样品	测定结果 (µg)						平均值 (µg)	加标量 (µg)	加标回收率 (%)
		1	2	3	4	5	6			
氨基葡萄糖	1	124.63	125.94	122.80	132.31	136.16	142.24	130.68	150	87.1
	2	151.18	167.57	193.06	161.69	159.01	164.20	166.12	180	92.3
	3	182.28	167.08	174.43	172.01	168.77	184.46	174.84	200	87.4
	4	196.75	201.16	204.44	186.40	210.19	176.11	195.84	200	97.9
	5	194.04	202.15	204.59	205.73	230.92	209.43	207.81	200	103.9
	6	153.56	174.66	168.05	168.90	167.61	168.30	166.85	180	92.7
	7	155.67	161.59	156.37	164.21	161.57	158.74	159.69	160	99.8
	8	178.68	144.39	159.65	160.30	180.76	168.35	165.36	180	91.9

	9	125.86	138.70	122.31	135.84	108.51	146.70	129.65	130	99.7
氨基半乳糖	1	45.98	54.09	53.04	48.52	50.25	49.89	50.29	50	100.6
	2	74.39	64.64	82.50	69.11	68.25	66.67	70.93	80	88.7
	3	79.73	77.25	72.28	71.72	71.65	73.45	74.34	90	82.6
	4	116.96	120.60	117.63	108.89	107.24	106.12	112.91	120	94.1
	5	83.80	85.67	85.55	80.91	79.95	83.89	83.29	90	92.5
	6	74.45	76.44	86.21	75.97	81.45	72.75	77.88	90	86.5
	7	83.07	75.61	81.78	86.03	81.76	88.79	82.84	80	103.6
	8	83.82	74.65	73.38	75.67	77.67	72.31	76.25	90	84.7
	9	56.48	61.31	54.55	54.71	68.71	61.90	59.61	60	99.4
胞壁酸	1	9.79	8.60	11.17	8.63	8.27	9.38	9.31	10	93.1
	2	11.81	8.60	8.79	11.68	8.09	8.54	9.59	10	95.9
	3	11.63	11.12	8.73	9.44	11.26	8.31	10.08	10	100.8
	4	10.67	9.00	9.99	11.40	8.40	8.44	9.65	10	0.97
	5	11.92	8.18	8.99	8.29	11.65	11.56	10.1	10	101.0
	6	11.94	10.08	11.75	10.15	9.37	9.03	10.39	10	103.9
	7	8.52	11.53	8.49	8.97	8.40	8.43	9.06	10	90.6
	8	8.03	10.67	8.63	11.95	10.51	8.17	9.66	10	96.6
	9	8.27	8.22	10.72	9.61	9.57	8.47	9.15	10	91.5

### 3.6 方法的线性范围

一般规定曲线最低点应为目标化合物检出限浓度的 2 倍~10 倍。其中氨基葡萄糖和氨基半乳糖含量设置的梯度均为：10，20，40，80，160，320，640，960 和 1280 $\mu\text{g}$ ，胞壁酸含量设置的梯度为：5，10，20，40，80，160，320，480 和 640 $\mu\text{g}$ ，三种化合物每个含量梯度分别做 7 个平行。按照标准规定的方法进行衍生和气相色谱测定。结果表明，氨基葡萄糖的线性范围为 10~1280 $\mu\text{g}$ ，氨基半乳糖的线性范围为 10~960 $\mu\text{g}$ ，胞壁酸的线性范围为 10~640 $\mu\text{g}$ ，说明本方法线性范围较宽。各化合物保留时间、线性回归方程、相关系数和线性范围详见表 6。

表 6 各化合物保留时间、线性回归方程、相关系数和线性范围

出峰顺序	目标化合物	保留时间 (min)	回归方程	相关系数	线性范围 ( $\mu\text{g}$ )
1	氨基葡萄糖	15.173	$y=0.0046x-0.005$	0.99950	10~1280
2	氨基半乳糖	16.008	$y=0.0039x+0.0069$	0.99955	10~960
3	胞壁酸	16.117	$y=0.0042x-0.0238$	0.99945	10~640

### 3.7 技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

本文件的制定与发布实施对相关行业、国内外高校、科研院所、检测机构等提供了必要的检测技术方法和标准。通过该标准的实施，规范了土壤中氨基糖含量的测定方法，可广泛应用于土壤碳氮循环领域研究，服务相关行业，应用前景广阔。同时，该标准的建立能够有效加强科学交流，增进数据共享，对于促进土壤生物与生物化学学科发展具有重要意义。

### 4. 与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

目前，国际、国外尚未有土壤氨基糖含量测定的相关标准。

### 5. 以国际标准为基础的起草情况

本文件在制定过程中没有查询到相应的国际国外标准，因此没有采标。

### 6. 与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本标准的制定符合《中华人民共和国标准化法》和《国家标准管理办法》。目前我国没有和《土壤氨基糖含量的检测方法 气相色谱法》相关的国家标准和行业标准。标准的格式和表达方式等方面完全执行了现行的国家标准和有关法规，符合 GB/T 1.1 的有关规定。与现行的法律、法规无冲突。

### 7. 重大分歧意见的处理经过和依据

无。

### 8. 涉及专利的有关说明

本文件不涉及专利。

### 9. 实施国家标准的要求及措施建议

建议标准实施前应充足供应标准文本，使科研院所、大专院校和检测机构等标准的使用部门能及时获得标准文本，这是保证标准贯彻实施的基础。同时建议严格按照文本文件提出的实验方法对土壤中氨基糖含量进行检测。标准实施后，建议由中国科学院沈阳应用生态研究所，针对标准的使用对象，有重点地对实验人员提供技术咨询，保证检测方法操作的准确性，以保证标准的贯彻执行。建议本标准正式发布后3个月后实施。

### 10. 其他应当说明的事项

无。