

夹管电磁阀定量-流动注射分析系统测定 海水中亚硝酸盐和硝酸盐氮

韩彬^{1*} 曹磊^{1 2} 郑立¹ 宋转玲¹ 蒋凤华¹ 臧家业¹ 王小如¹

¹(国家海洋局第一海洋研究所, 青岛 266061) ²(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘 要 采用 3 个夹管电磁阀联用代替传统六通阀的样品定量方法, 自制一套多通道流动注射分析仪, 并优化了仪器的最佳测试条件, 实现了海水中硝酸盐氮和亚硝酸盐氮含量的测定。本分析系统结构简单, 性能可靠, 测定频率为 28 个/h。测试结果表明, 亚硝酸盐氮和硝酸盐氮的线性范围(以氮含量计)分别为 25 ~ 1000 $\mu\text{g/L}$ 和 50 ~ 1000 $\mu\text{g/L}$ ($R \geq 0.999$), 检出限分别为 1.8 和 4.8 $\mu\text{g/L}$; 加标回收率在 94.5% ~ 105.3% 之间; 加标 200.0 $\mu\text{g/L}$ 的回收实验的相对标准差在 1.3% ~ 4.5% 之间($n = 6$)。经 t 检验分析, 本方法与国标方法测定数据无显著性差异, 可适用于海水中微量亚硝酸盐氮和硝酸盐中氮的快速测定分析。

关键词 夹管电磁阀; 流动注射分析; 硝酸盐; 亚硝酸盐

1 引 言

硝酸盐和亚硝酸盐是海洋环境中常见的营养物质, 其中亚硝酸盐是一种强致癌剂。海水中过剩的硝酸盐、亚硝酸盐会刺激水生生物大量繁殖, 可能引起海洋赤潮爆发, 因此硝酸盐和亚硝酸盐的浓度一定程度上可指示海水污染的程度。硝酸盐和亚硝酸盐的测定方法有分光光度法^[1~3]、荧光法^[4]、化学发光法^[5, 6]、电化学法^[7~9]、色谱法^[10, 11]及流动注射法^[12~14]等。其中色谱法、电化学法需要昂贵复杂的仪器或试剂, 而分光光度法虽然所用设备简单, 但手工操作复杂, 重现性差。流动注射分析(Flow injection analysis, FIA)是一种成熟的分析方法, 分析速度快, 精度高, 设备简单, 但大部分流动注射法均使用价格偏贵的六通阀定量。现有的商品 FIA 结构复杂, 易出现冒、漏、堵等问题, 且对流动注射系统自动控制要求较高。本研究采用廉价的夹管电磁阀代替传统的六通阀, 不仅可对样品进行准确的定量分析, 并且避免了传统六通阀的堵、漏等问题。本系统流路简单, 操作简便, 测定频率高(28 个/h), 与国标方法对实际海水样品的比对的结果令人满意。

2 实验部分

2.1 测定原理及流动注射系统结构

海水中的亚硝酸盐及硝酸盐氮测定原理: 海水中的硝酸盐经铜-镉柱还原为亚硝酸盐, 亚硝酸盐与对氨基苯磺酰胺重氮化, 再与萘乙二胺盐酸盐偶合, 形成红色的偶氮染料, 在 543 nm 波长处进行测定, 其吸光度与硝酸盐氮浓度之间符合朗伯比尔定律。经测定的总硝酸盐氮含量减去用同样的方法测定但不经铜-镉还原柱的海水样中的亚硝酸盐氮含量, 得出海水中硝酸盐氮的含量。

本研究自制亚硝酸盐氮及硝酸盐氮的流动注射分析系统, 如图 1。流动注射分析系统主要包括进样系统、样品定量系统、管路系统、还原系统及检测系统五部分。首先, 样品与标准溶液由电磁阀

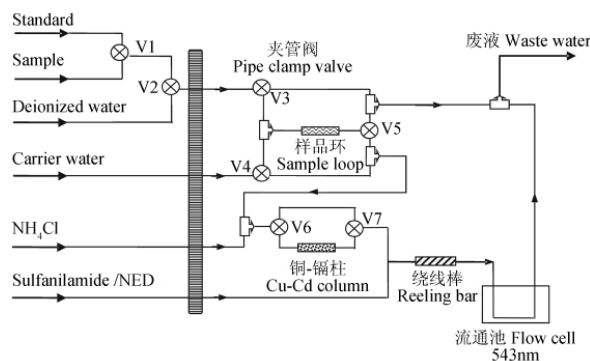


图 1 硝酸盐/亚硝酸盐中氮的流动注射分析流程图

Fig. 1 Flow chart of flow injection analysis for nitrate and nitrite

2010-05-04 收稿; 2010-07-06 接受

本文系国家海洋局第一海洋研究所基本科研业务费专项(No. 2010G14)、大连理工大学海岸和近海工程国家重点实验室开放基金(No. LP1012) 和国家高技术研究发展计划项目(No. 2006AA09Z167) 资助

* E-mail: hanbin@ fio. org. cn

V1 转换 样品及标准溶液与去离子水转换通过 V2 完成 ,进样品及标准溶液与去离子水时间相等 ,样品与去离子水间隔进样 ,当样品流至电磁阀 V3 时 ,通过 V3 ,V4 和 V5 转换使样品进入定量环 ,充环时间应低于进样时间 ,并且保证管路中样品浓度最高、最稳定部分充满定量环 ,载液(去离子水) 将定量环中样品载入铜-镉还原柱 ,样品中硝酸盐还原为亚硝酸盐 ,亚硝酸盐与显色剂经混合圈混合 ,充分显色 ,流入检测器的流通池测定。亚硝酸盐中氮的测定则可通过 V6 和 V7 阀转换 ,使样品不经过铜-镉还原柱 ,直接与显色剂显色 ,流入流通池测定。

2.2 流动注射分析系统各部分功能的实现

2.2.1 进样系统 进样系统由一个六通道恒流蠕动泵及泵管构成。试剂和样品经蠕动泵载入样品反应管路 ,泵管尺寸见表 1。

表 1 流动注射分析仪泵管尺寸
Table 1 Pipe sizes of flow injection analysis

试剂 Reagent	泵管内径 Inside diameter of pump tube/mm(inch)	试剂 Reagent	泵管内径 Inside diameter of pump tube /mm(inch)
样品 Sample/标准 Standard	1.016(0.04)	NH ₄ Cl 缓冲溶液 Ammonium chloride buffer solution	0.889(0.035)
磺胺/NED 显色剂 Sulfanilamide/Naphtyl ethylenediamine dihydrochloride (NED)	0.889(0.035)	载液(去离子水) Carrier water(Deionized water)	1.016(0.04)

2.2.2 样品定量系统 样品定量系统采用 3 个夹管电磁阀组合代替传统的六通阀实现样品定量分析 ,图 2 展示了传统六通阀与夹管电磁阀样品定量功能的区别。图 2a 与图 2c 均可实现样品的准确定量;图 2b 与图 2d 均可实现样品的进样及定量环的清洗。二者虽均可有效避免样品之间的互相干扰 ,但传统流通阀不仅价格偏高 ,对仪器的自动化软件控制要求也较高。而本研究通过 3 个简单、廉价的常开或常闭夹管电磁阀组合 ,在确定时间段向 3 个电磁阀施加电流即可实现对样品的定量分析。

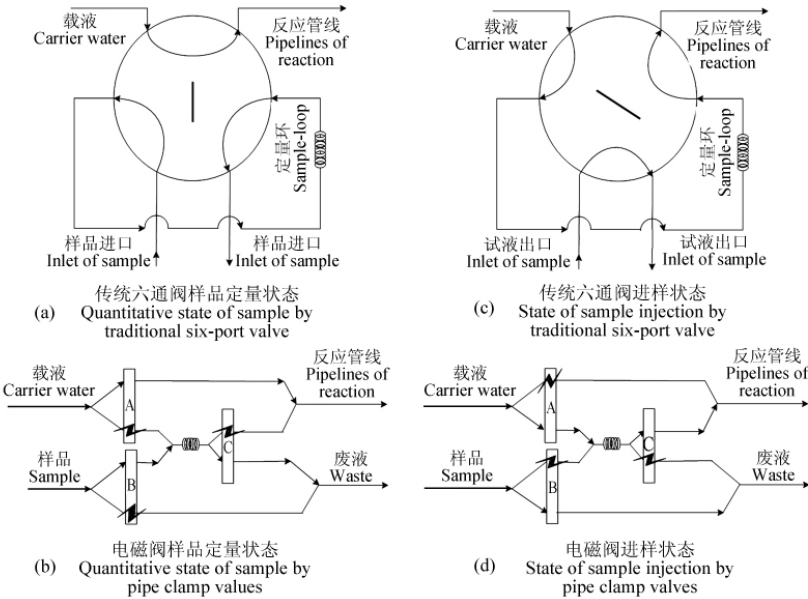


图 2 传统六通阀与夹管阀进样方式对比
Fig. 2 Comparison formodes of sample injection between traditional six-port valve and pipe clamp valves

2.2.3 管路系统 管路系统由聚四氟乙烯的三通阀、两通阀和内径为 0.8 mm 的透明管构成 ,夹管电磁阀软管为改良的耐酸耐碱硅胶管。

2.2.4 还原系统 还原系统主要由两个夹管电磁阀和一根铜-镉还原柱(长 15cm ,直径为 1 cm ,内径 0.5 cm) 组成。通过夹管电磁阀通断的方式 ,将铜-镉还原柱接入管路 ,以实现硝酸盐还原为亚硝酸盐。

实验用铜-镉还原柱的参考文献[12]制备。

2.2.5 检测系统 检测系统由可提供波长 543 nm 的发光二极管(LED)光源和光程为 1 cm 流通池组成。

2.2.6 标准溶液的配制 100.0 mg/L(以氮含量计)亚硝酸盐标准储备液: NaNO_2 (优级纯,天津化学试剂批发公司)经 110 °C 烘 2 h,置于干燥器中冷却备用。称取烘干的 0.4926 g NaNO_2 ,溶于少量水,定容至 1000 mL 容量瓶,加 1 mL 三氯甲烷,混匀;100.0 mg/L(以氮含量计)硝酸盐标准储备液: KNO_3 (优级纯,天津化学试剂批发公司)经 110 °C 烘 2 h,置于干燥器中冷却备用。称取 0.7218 g KNO_3 ,溶于少量水,定容至 1000 mL 容量瓶,加 1 mL 三氯甲烷,混匀。

2.2.7 仪器参数 恒流蠕动泵泵速 30 r/min,进样及进去离子水时间均为 60 s。样品经蠕动泵到达 V3 阀时间为 215 s,设定 230 s 时,阀 V3, V4 和 V5 切换至进样定量状态,充满进样环,经历时间 30 s,阀 V3, V4 和 V5 重新回到初始状态,载液将样品载入反应管路。样品到达检测器的时间为 310 s,每隔 120 s 检测器均可检测到连续进样的待测样品,则本仪器样品分析频率约为 28 个/h。

3 结果与讨论

3.1 定量环尺寸对亚硝酸盐中氮的测定的影响

定量环直径和长度决定了测定样品的体积,因反应管路均内径为 0.8 mm,如果定量环的内径较小,则易引起管路堵漏的现象;定量环内径过大,则需较长的充环和洗环时间。因此定量环与反应管内径应一致。采用 200.0 $\mu\text{g/L}$ (以氮含量计)亚硝酸盐标准溶液,考察了定量环长度(5~30 cm)对样品峰面积的影响(图 3)。随着定量环长度增加,样品测定峰面积不断增加,则样品测定灵敏度随之增加,但也增加了充环和洗环时间。因进样时间选择为 60 s,且进样环在 10~20 cm 之间样品峰面积增量不大,因此最佳定量环长度选择为 15 cm。

3.2 显色剂浓度对亚硝酸盐中氮的测定的影响

采用 200.0 $\mu\text{g/L}$ (以氮含量计)亚硝酸盐标准溶液,在磺胺浓度为 5~40 g/L 范围内进行显色分析,结果见图 4。随着磺胺浓度增加,样品峰面积也随之增加,磺胺浓度从 5 g/L 增加至 10 g/L 时,峰面积增加显著;磺胺浓度从 10 g/L 增加至 40 g/L 时,峰面积增加幅度趋于平稳;由于磺胺浓度从 20 g/L 增加至 40 g/L 时,仪器测定基线随之升高(从 730 mV 升高至 1680 mV),仪器基线噪声升高对目标物的干扰作用增强。因此,选择 20 g/L 磺胺作为亚硝酸盐中氮的最佳显色浓度。

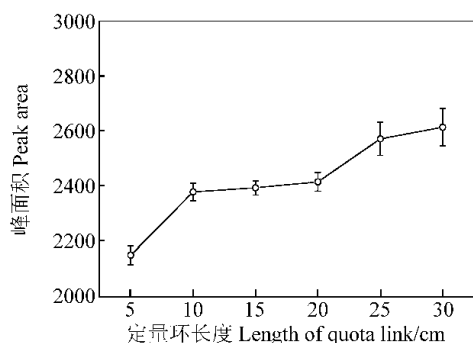


图 3 样品峰面积随定量环长度变化

Fig. 3 Change of peak area along with length quota link

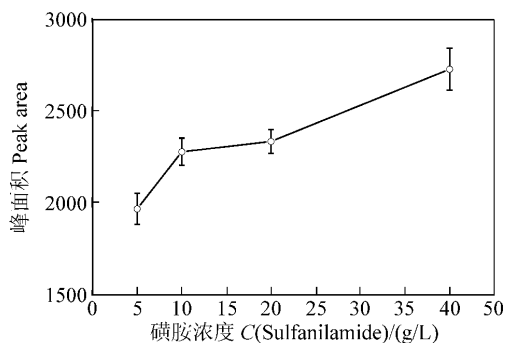


图 4 样品峰面积随磺胺浓度变化

Fig. 4 Change of peak area along with concentration of sulfanilamide

3.3 NH_4Cl 缓冲溶液对硝酸盐中氮的测定的影响

采用 200.0 $\mu\text{g/L}$ (以氮含量计)硝酸盐标准溶液,分析不同浓度 NH_4Cl 缓冲溶液对硝酸盐中氮的测定的影响。分别选取 10, 42 和 85 g/L NH_4Cl , pH 值均为 8.5。测量结果见图 5, NH_4Cl 浓度过高,仪器测量基线上升,背景值增高,硝酸盐中氮的测量响应值未见明显改善,这说明 NH_4Cl 浓度的提高对于提高仪器的灵敏度无明显效果。此外,对低浓度硝酸盐中的氮测量时,样品峰会淹没到基线中而影响测定;而对高浓度硝酸盐中的氮测量时,样品峰会溢出仪器响应值上限。因此,基线上升对低浓度和高浓

度硝酸盐中的氮的测量均不利。因此选择 10 g/L NH₄Cl 缓冲溶液为最佳条件。

3.4 铜-镉柱还原率的测定

选取 10 g/L NH₄Cl 缓冲溶液和 20 g/L 磺胺显色剂 ,分别对 200.0 μg/L(以氮含量计)硝酸盐和亚硝酸盐标准溶液进行测量 ,重复测定 6 次 ,结果见表 2。可见铜-镉柱对硝酸盐氮的还原率平均值均大于 95% ,可满足实验要求。

表 2 镉柱对硝酸盐中氮的还原率的测试结果

	200.0 μg/L NO ₃ ⁻ (以氮含量计) Calculated in N	200.0 μg/L NO ₂ ⁻ (以氮含量计) Calculated in N	还原率 Reduction efficiency (%)
平均值 Average	2444	2570	95.1
标准偏差 Standard deviation	36	14	1.67
RSD (%, n = 6)	1.5	0.53	1.8

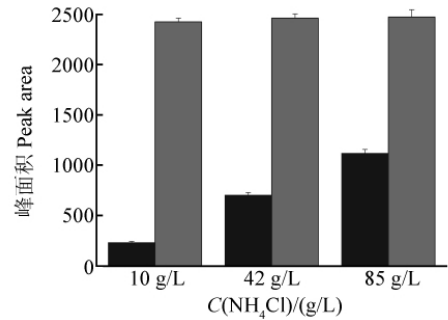


图 5 检测基线及峰面积随 NH₄Cl 浓度的变化曲线

Fig. 5 Changes of baseline and peak areas with the concentration of ammonium chloride

■: Baseline; ▒: Peak area.

3.5 标准曲线线性、稳定性、检出限和精密度

采用上述条件 对 0 ~ 1000 μg/L(以氮含量计)亚硝酸盐和硝酸盐的标准溶液重复测定 6 次 ,得到亚硝酸盐及硝酸盐中氮的浓度与峰面积的线性关系(表 3)。硝酸盐及亚硝酸盐中氮的测定标准曲线线性良好 ,相关系数 $r \geq 0.9995$ 。按照 $S/N = 3$ 求得亚硝酸盐和硝酸盐中氮的的检出限为 1.8 和 4.8 μg/L(以氮含量计)。

表 3 亚硝酸盐及硝酸盐中氮的线性关系和方法的检出限

名称 Name	线性关系 Linear regression equation	相关系数 Correlation coefficient (<i>r</i>)	检出限(以氮含量计) Limit of detection (μg/L)	线性范围(以氮含量计) Linear range (μg/L)
亚硝酸盐 Nitrite	$A = 10.9710C + 143.8022$	0.9996	1.8	25 ~ 1000
硝酸盐 Nitrate	$A = 10.6967C + 120.7756$	0.9995	4.82	50 ~ 1000

对去离子水和海水进行了不同浓度的水平的亚硝酸盐和硝酸盐氮的加标回收实验。利用研制仪器进行测定 ,计算其回收率及测定 RSD(表 4)。亚硝酸盐中氮的加标回收率为 96.1% ~ 102.3%; RSD 为 0.74% ~ 4.02%; 硝酸盐中氮的回收率为 94.5% ~ 105.3%; RSD 为 3.13% ~ 7.85%。因此 ,本系统对于硝酸盐和亚硝酸盐中氮的测定具有较高的准确度和精密度。

表 4 去离子水及海水中亚硝酸盐氮及硝酸盐氮的加标回收测定结果

标准 Standard	平均回收率及 RSD Average recovery and RSD	添加水平 Spiking level (μg/L) (以氮含量计 , Calculated in N)		
		50	200	400
亚硝酸盐 Nitrite	去离子水平均回收率(%)	96.1	97.5	98.6
	Average recovery for deionized water			
	RSD(%)	2.43	1.26	0.74
	海水水平均回收率(%)	102.3	98.3	97.2
硝酸盐 Nitrate	Average recovery for seawater			
	RSD(%)	4.02	2.54	3.12
	去离子水平均回收率(%)	96.2	95.7	97.4
	Average recovery for deionized water			
硝酸盐 Nitrate	RSD(%)	5.78	4.05	3.13
	海水水平均回收率(%)	94.5	105.3	103.7
	Average recovery for seawater			
	RSD(%)	7.85	4.53	4.27

3.6 仪器方法与国标方法比对分析

为测试本系统的测量的准确度 ,利用去离子水配制亚硝酸盐标准溶液 25 , 50 , 100 , 150 和 200 μg/L(以氮含量计) ,以 35‰ NaCl 溶液配制硝酸盐标准溶液 25 , 50 , 100 , 200 和 400 μg/L(以氮含

量计)。采用国标方法^[15]和本方法同时比对测定,结果见表 5,两种方法对亚硝酸盐中氮的测定结果的 RSD 均小于 5%,硝酸盐中氮的测定结果中除 25 μg/L(以氮含量计)外,其余浓度的 RSD 均小于 5%,原因在于 25 μg/L(以氮含量计)处于硝酸盐氮线性测定范围下限,相对误差偏高。

表 5 仪器方法和国标方法分析亚硝酸盐氮及硝酸盐氮标准结果对比
Table 5 Comparison of analytical results for nitrate and nitrite by instrument method and National Standard Method

标准 Standard	浓度 Concentration (μgN/L)	国标方法 National standard method (n = 6)	RSD (%, n = 6)	仪器方法 Instrument method (n = 6)	RSD (%, n = 6)
亚硝酸盐 Nitrite	25	26.9 ± 3.3	5.18	23.5 ± 2.4	4.37
	50	52.7 ± 2.7	3.72	47.4 ± 3.1	3.78
	100	105.9 ± 3.8	4.05	103.1 ± 3.5	2.16
	150	140.5 ± 4.4	4.62	143.8 ± 7.2	2.98
	200	195.3 ± 7.6	1.68	207.4 ± 8.1	2.57
硝酸盐 Nitrate	25	27.3 ± 3.7	6.22	22.3 ± 5.4	8.07
	50	53.1 ± 3.8	4.25	46.7 ± 6.6	4.83
	100	95.3 ± 9.4	3.40	96.4 ± 5.8	2.59
	200	195.2 ± 11.4	1.72	193.6 ± 9.4	2.30
	400	389.8 ± 13.9	1.83	391.8 ± 14.5	1.46

为测试本系统的实用性,采集青岛近岸 6 个实际海水样品,海水样品经 0.45 μm 醋酸纤维膜过滤,分别采用国标方法和仪器方法对其测定,结果见表 6。国标方法与总氮分析仪器测定结果相对标准偏差较小。利用 *t* 检验法对所获数据进行显著性检验,取 α = 0.05, *n* = 6,则自由度 *f* = 10,查表得 *t*_(α, *f*) 的临界值为 2.228。由于实验所得亚硝酸盐及硝酸盐测试结果的 *t* 值均小于 *t*_(α, *f*) 的临界值,可见两种方法得到的测量数据无显著性差异。

表 6 仪器方法和国标方法分析现场采集海水结果对比
Table 6 Comparison of analytical results for seawater by instrument method and National Standard Method

取样点 Sample stations	国标方法(<i>n</i> = 6) National standard method		仪器方法(<i>n</i> = 6) Instrument method		T-tests	
	亚硝酸盐 Nitrite (μg/L)	硝酸盐 Nitrate (μg/L)	亚硝酸盐 Nitrite (μg/L)	硝酸盐 Nitrate (μg/L)	亚硝酸盐 Nitrite (μg/L)	硝酸盐 Nitrate (μg/L)
五四广场近岸 Offshore of Wu-si plaza	23.2 ± 2.6	125.3 ± 7.7	24.7 ± 3.7	121.6 ± 5.8	0.890	1.030
沙子口近岸 Offshore of Sha-zi-kou	19.1 ± 3.8	139.1 ± 6.4	21.4 ± 5.4	143.3 ± 4.4	0.935	1.451
鲁迅公园近岸 Offshore of Lu-xun park	33.4 ± 3.2	168.5 ± 5.3	34.8 ± 6.3	171.9 ± 3.4	0.532	1.449
石老人近岸 Offshore of Shi-lao-ren plaza	12.2 ± 4.9	98.4 ± 7.8	14.6 ± 4.4	89.3 ± 8.9	0.978	2.063
麦岛近岸 Offshore of Mai-dao	31.5 ± 4.6	175.2 ± 10.3	32.8 ± 3.5	179.7 ± 7.8	0.603	0.935
黄岛近岸 Offshore of Huang-dao	53.2 ± 8.1	319.4 ± 15.6	55.1 ± 6.3	325.6 ± 9.6	0.497	0.908

References

1 HJ/T346-2007. *Water Quality-Determination of Nitrate-nitrogen-Ultraviolet Spectrophotometry*(水质-硝酸盐氮的测定-紫外分光光度法). Professional Standard of Environmental Protection of the People's Republic of China(中华人民共和国环境保护行业标准)

2 MA Jian(马 剑), ZHANG Min(张 敏), YUAN Dong-Xing(袁东星), LI Quan-Long(李权龙). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2009**, 37(2): 313 ~ 313

3 Matthew D. Patey, Micha J. A. Rijkenberg, Peter J. Statham, Mark C. Stinchcombe, Eric P. Achterberg, Matthew Mowlem. *Trends in Analytical Chemistry*, **2008**, 27(2): 169 ~ 182

4 YANG Xi-Min(杨喜民), LI Shuan-De(李拴德), YANG Shu-Zhen(杨术真). *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*(临床检验杂志), **1997**, 15(6): 339 ~ 340

- 5 GONG Zheng-Jun(龚正君) , ZHANG Zhu-Jun(章竹君) . *Journal of Southwest Jiaotong University*(西南交通大学学报) , **2005** , 40(2) : 277 ~ 280
- 6 WANG Xue-Feng(王学锋) , SHI Xuan(史 选) , PI Yun-Qing(皮运清) . *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学) , **2005** , 33(6) : 856 ~ 858
- 7 SUN Yuan-Xi(孙元喜) , YE Bao-Xian(冶保献) . *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学) , **1998** , 26(2) : 166 ~ 169
- 8 WANG Jian-Fei(汪建飞) , CHEN Shi-Yong(陈世勇) , XING Su-Zhi(邢素芝) , ZHAHG Qin(张 琴) . *Gansu Agr. Sci. and Techn.* (甘肃农业科技) , **2004** , (5) : 39 ~ 41
- 9 JIANG Ting-Fu(姜廷福) , LI Ju-Bai(李菊白) , LI Chen(李 辰) , LIANG Bing(梁 冰) . *Chinese Journal of Analysis Laboratory*(分析实验室) , **2004** , 23(5) : 34 ~ 36
- 10 XU Xia(徐 霞) , YING Xing-Hua(应兴华) , DUAN Bin-Wu(段彬伍) , CHEN Neng(陈 能) . *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学) , **2007** , 35(11) : 1586 ~ 1590
- 11 Ito K , Takayama Y , Makabe N , Mitsui R , Hirokawa T. *J. Chromatogr. A* , **2005** , 1083(1-2) : 63 ~ 67
- 12 ZHAO Ping(赵 萍) , CHEN Jin-Hui(陈金辉) , XIAO Jing-Ze(肖靖泽) . *Life Science Instruments*(生命科学仪器) , **2007** , 5(6) : 19 ~ 22
- 13 C. E. López Pasquali , P. Fernández Hernando and J. S. Durand Alegría. *Anal. Chim. Acta* , **2007** , 600(1-2) : 177 ~ 182
- 14 SUN Xi-Yan(孙西艳) , HONG Ling-Cheng(洪陵成) , LIU Ai-Ping(刘爱平) , DA Hai-Wen(笪海文) . *Chemical Research*(化学研究) , **2009** , 20(3) : 54 ~ 58
- 15 GB 17378. 4-2007. *The Specification for Marine Monitoring-Part 4: Seawater Analysis*(海洋监测规范第四部分: 海水分析) . National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准)

Determination of Nitrite and Nitrate-Nitrogen in Seawater by Flow Injection Analysis Based on Quantificational Pipe Clamp Solenoid Valves

HAN Bin^{* 1} , CAO Lei^{1 2} , ZHENG Li¹ , SONG Zhuan-Ling¹ , JIANG Feng-Hua¹ , ZANG Jia-Ye¹ , WANG Xiao-Ru¹

¹(*First Institute of Oceanography , State Oceanic Administration , Qingdao 266061*)

²(*College of Fisheries and Life Science , Shanghai Ocean University , Shanghai 201306*)

Abstract Using three pipe clamp solenoid valves to replace the traditional six-port valve for sample quota , a set of multichannel flow injection analyzer was designed for the determination of nitrate and nitrite in seawaters. The construction of apparatus is simple and has potential to be used for analysis of nitrite and nitrate. The sample throughput of nitrite and nitrate was 28 samples/h. The liner range of nitrite and nitrate was 25.0 – 1000 $\mu\text{g/L}$ and 50.0 – 1000 $\mu\text{g/L}$ ($R \geq 0.999$) . The detection limits of nitrite and nitrate were 1.81 $\mu\text{g/L}$ and 4.82 $\mu\text{g/L}$. The recovery of nitrate and nitrite was 94.5% – 105.3% . The relative standard deviations for 200 $\mu\text{g/L}$ of nitrate and nitrite was 1.3% – 4.5% ($n = 6$) . The results showed that there are not significance differences between this method and national standard method in the t -test analysis. The method is suitable for fast analysis of nitrite and nitrate in seawater.

Keywords Pipe clamp solenoid valves; Flow injection analysis; Nitrite; Nitrate

(Received 4 May 2010; accepted 6 July 2010)