

研究简报

海水营养盐自动测定研究

II. 氨氮的反流动注射分析

陆贤昆 康代温 洪伟良

(青岛海洋大学, 266003)

自从流动注射分析技术提出以后, 很多作者用于测定水中氨氮的研究。其主要测定方法有奈氏试剂法、气体扩散法、电测法等^[3,4,7,9,10]。这些方法有的检出限较高, 不适于海水中 NH_4^+-N 的测定, 有的则还没有直接应用于海水介质中。Johnson 等提出了反流动注射分析技术, 利用样品分散度低的特点, 使分析灵敏度显著提高, 并对海水中 NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , SiO_3^{2-} 的测定进行了研究^[5,6,11]。鉴于我国调查规范的要求, 本文利用流动注射技术对次溴酸钠氧化法进行了研究, 并通过因子设计及单纯形最优化选择等条件实验, 得到了满意的结果。

一、实 验

1. 仪器

7211 分光光度计, 1cm 流通池, FIA-21A 型流动注射分析仪, 恒温水浴装置。

2. 标准与试剂

(1) 标准溶液 分别制备 NH_4Cl 和 NaNO_2 的标准贮备液 (100 $\mu\text{mol}/\text{ml}$), 再配制成使用液 (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$)。

(2) 次溴酸钠溶液 贮备液: 称取 2.5g 溴酸钾及 20g 溴化钾溶于 1L 蒸馏水中, 溶液常年稳定。使用液: 取 1ml 上述贮备液, 用蒸馏水稀释至 50ml, 加入 3ml 6.0mol/L HCl , 迅速盖上塞子混匀, 暗处反应 5min, 加入 50ml 26% 的无氨 NaOH 混合反应而成。

(3) 无氨 NaOH 溶液 (26%, W/V) 130g 分析纯 NaOH 溶于 1L 蒸馏水中, 蒸发至 500ml。

(4) 掩蔽剂 6.0g 酒石酸钾 (A.R.) + 5.2g 柠檬酸钠 (A.R.), 溶于 100ml 蒸馏水中。

(5) 氨基酸溶液 (10×10^{-6}) 取赖氨酸、铬氨酸、精氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸各 1mg 溶于 500ml 蒸馏水中。

(6) 其他 磺胺, 1%; 3.0mol/L HCl ; N-(1-萘基)乙二胺盐酸盐 (NED), 0.15%。

所有试剂均用无氨蒸馏水配制。

3. 分析线路

分析线路见图 1。样品(S)和氧化剂(B)混合后在 30°C 水浴中经管 L_1 反应后与磺胺(R_1)混合,通过注入阀注入 NED (R_2),经 L_3 反应后,至检测器 D 检测。图中 A 点以后的设计与测定硝酸盐、亚硝酸盐的分析线路一致^[2]。

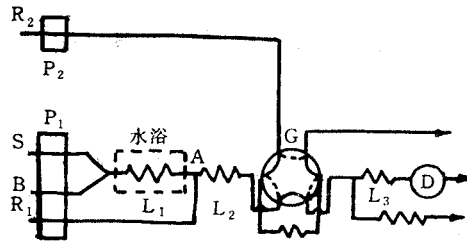


图 1 测定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 分析线路图

Fig. 1 Manifolds of the determination of $\text{NH}_4^+\text{-N}$

P_1, P_2 . 蠕动泵; G. 注入阀; L_1, L_2, L_3 . 反应管; D. 流通式检测器;
S. 样品; B. 氧化剂; R_1 . 磺胺; R_2 . NED。

二、结果和讨论

1. 条件试验和优化选择

所选的实验条件包括: 样品流速 F_1 , 氧化剂流速 F_2 , 磺胺流速 F_3 , 加入氧化剂后反应管长 L_1 , 加入磺胺后反应管长 L_2 , 注入 NED 后反应管长 L_3 , 磺胺浓度 c_1 , NED 浓度 c_2 , 氧化剂浓度 c_3 (包括次溴酸钠的浓度, NaOH 的浓度)。为使实验简化, 对于 NO_2^- 的测定, 直接采用陆贤昆等^[2]的某些条件和试剂浓度。

(1) 因子设计 以氧化剂流速 F_2 , 氧化反应管长 L_1 作为主要因子。为考察相互影响, 也同时将 F_1, F_3, L_2 并入因子设计, 对其影响作初步估计见表 1。由表 2 可见, F_1, L_1 取高水平对实验有利, 这与样品分散度变小, 反应时间加长相对应; F_2, F_3 则需选低水平, 与减少稀释增加灵敏度相一致, L_2 则对结果没有显著影响。参照测定 NO_3^- , NO_2^- 的条件^[2], 选定 $F_1 = 5.0 \text{ ml/min}$, $F_2 = 1.0 \text{ ml/min}$, $F_3 = 1.2 \text{ ml/min}$, $L_2 = 0.1 \text{ m}$ 。对 L_1 的选择和温度影响还作了进一步实验。实验表明, 随着 L_1 的加长和温度的升高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$

表 1 因子及水平设计
Tab. 1 Design of factors

因 子	水 平	
	+	-
F_1 (ml/min)	4.9	2.0
F_2 (ml/min)	1.6	1.0
F_3 (ml/min)	2.6	1.3
L_1 (m)	5.4	3.3
L_2 (m)	2.3	0.3

的吸收值和氧化率均升高, 表明分析线内反应未达平衡。根据 FIA 中标准与样品是在同条件下进行的, 只要有明显色阶可不要求各段化学反应完全, 为达一定的分析速度和维持稳定流速, L_1 不能太长。当 L_1 取 5.3m 时, 样品流经整个流路需 60s, 可达 60 样/h 的分析速度。实验采用 30°C 的水浴保持氧化反应管恒温, 以免过高温度产生气泡影响测定。

表 2 因子设计实验结果

Tab. 2 Experiment results of factor design

样品号	因子水平					峰值 ΔA ^①
	F_1	F_2	F_3	L_1	L_2	
1	+	-	-	+	-	0.068
2	-	-	+	+	+	0.027
3	+	+	-	-	+	0.049
4	-	+	+	-	-	0.010
5	+	-	-	+	+	0.061
6	-	-	+	-	+	0.032
7	+	+	+	+	-	0.059
8	-	+	-	-	-	0.032
效应值 ^②	+0.034	-0.010	-0.021	+0.023	0.000	

① $\Delta A = A - A'$, A 为 $5\mu\text{mol/L NH}_4^+ - \text{N}$ 标准溶液的吸收值; A' 为空白吸收值。② 效应值 $E = \frac{1}{4}(U - L)$, U : 各高水平峰值 ΔA 的加合; L : 各低水平峰值 ΔA 的加合。

(2) 单纯形优化 采用单纯形优化法确定氧化剂的浓度 $C_{\text{氧}}$, 氧化剂中 NaOH 的浓度 $C_{\text{碱}}$ 和磺胺的酸度 $C_{\text{酸}}$ (其中磺胺和 NED 的浓度在 NO_3^- , NO_2^- 的实验中已经确定^[2])。取吸收峰值与氧化率的乘积为判据, 结果列于表 3。

表 3 氧化剂浓度 ($C_{\text{氧}}$)、NaOH 的浓度 ($C_{\text{碱}}$) 及磺胺酸度 ($C_{\text{酸}}$) 的单纯形最优化

Tab. 3 Simplex of oxide, NaOH and sulfanilamide concentrations

样品号	$C_{\text{氧}}(\%, \text{V/V})$	$C_{\text{碱}}(\%, \text{W/V})$	$C_{\text{酸}}(\text{mol/L})$	峰高 ΔA	氧化率 R	β ^①	$\frac{\Delta A \times R}{\times 1000}$
1	2.0	40	4.0	—	—	—	—
2	2.0	40	6.0	0.068	0.77	—	52.4
3	1.0	24	6.0	0.077	0.79	—	60.8
4	1.0	24	4.0	0.079	0.88	—	69.5
5	0.7	20	6.0	0.060	0.61	1	36.6
6	1.5	32	5.2	0.067	0.74	0.3	49.6
7	1.2	27	5.5	0.080	0.81	1	65.3
8	0.6	18	5.0	0.049	0.61	0.5	29.9
9	0.8	21	5.0	0.067	0.77	-0.5	51.6

① β 为缩小或扩大系数。

进一步对磺胺溶液的酸度进行实验表明, 在 3.0—6.7mol/L 的范围内, 峰高和氧化率的乘积基本一致, 到 8.0mol/L 略有降低; 而酸度小于 2.4mol/L 时, 磺胺与氧化剂混合后显碱性, 不与 NED 反应。

综上所述,本实验所选最佳条件为: $F_1 = 5.0 \text{ ml/min}$, $F_2 = 1.0 \text{ ml/min}$, $F_3 = 1.2 \text{ ml/min}$, $L_1 = 5.3 \text{ m}$, $L_2 = 0.1 \text{ m}$, $C_{\text{气}} = 1\% \text{ (V/V)}$, $C_{\text{碱}} = 26\% \text{ (W/V)}$, $C_{\text{酸}} = 3.0 \text{ mol/L}$ 。

2. 校准、盐效应和线性范围

(1) 校准 分别以蒸馏水和 35‰ NaCl 为介质的人工海水,选取 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度范围 $0\text{--}5 \mu\text{mol/L}$,用上述条件测定吸光度,结果列于表 4。

表 4 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的校准及线性回归

Tab. 4 Calibrations and linear regressions of $\text{NH}_4^+\text{-N}$

$C_{\text{NH}_4^+\text{-N}}$ ($\mu\text{mol/L}$)	标准溶液吸收值			
	蒸馏水介质①		海水介质②	
	1	2	1	2
0.0	0.078	0.068	0.093	0.070
1.0	0.091	0.083	0.108	0.090
2.0	0.108	0.102	0.122	0.101
3.0	0.125	0.115	0.136	0.121
4.0	0.142	0.134	0.152	0.136
5.0	0.158	0.151	0.165	0.153
r	0.999 3	0.999 2	0.999 8	0.998 2
b	0.016 3	0.016 4	0.014 5	0.016 5
a	0.076	0.068	0.093	0.071

① 蒸馏水介质 1,2 分别为 6.11 日和 6.19 日的测定值。② 海水介质 1,2 分别为 6.12 日和 6.20 日的测定值。

测量结果进行回归表明,蒸馏水介质的相关性较好,相关系数大于 0.999; 35‰ NaCl 介质的相关系数大于 0.998。造成不同日期的斜率有所差别的原因可能是流速的变化以及温度等的不完全一致。

(2) 盐效应 分别以蒸馏水和 35‰ NaCl 为介质,在不同日期测量一系列校准曲线,求出其斜率及不同介质斜率差值。结果表明,盐误差基本为负值,并在测量误差范围内波动。平均结果表明,其盐误差不大于 2%,一般测定时间不予考虑,此结果与文献报道一致^[8]。

(3) 线性范围 以蒸馏水为介质作 $0\text{--}50 \mu\text{mol/L}$ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 校准曲线,绘于图 2。从图 2 看出, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度在 $0\text{--}20 \mu\text{mol/L}$ 的范围内,符合比耳定律,超出此范围,校准曲线向横轴弯曲。

3. 回收率、检出限和精密度

(1) 内控样品的回收 以 $2 \mu\text{mol/L}$ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 作为内控样品,重复测定 9 次,从校准曲线上求出浓度(其值分别为 2.08, 2.08, 2.01, 2.01, 2.08, 2.08, 2.01, 2.01)。平均回收率为 102%,在实验误差范围内。

(2) 检出限和精密度 用蒸馏水和海水样品重复测定 9 次(表 5)。当用 1cm 液池时检出限为 $0.13 \mu\text{mol/L}$ 。

由所测海水样品可以求出测量结果的变异系数,当 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度在 $2.23 \mu\text{mol/L}$

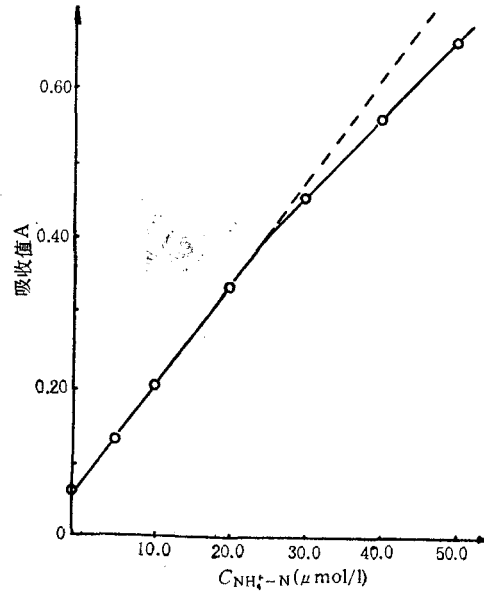
图2 NH_4^+-N 分析校准曲线Fig. 2 Calibration curve of NH_4^+-N detection

表5 蒸馏水及海水样品重复测定结果

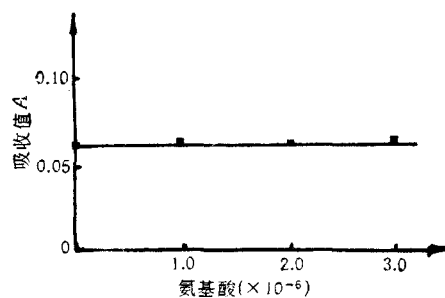
Tab. 5 Repeated detection results of distilled water and seawater samples

	蒸 馏 水		海 水 样 品	
	吸 光 值	相当的浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	吸 光 值	浓 度 ($\mu\text{mol/L}$)
	0.052	3.74	0.032	2.30
	0.053	3.81	0.030	2.16
	0.053	3.81	0.031	2.23
	0.053	3.81	0.030	2.16
	0.053	3.81	0.031	2.23
	0.054	3.88	0.031	2.23
	0.052	3.74	0.031	2.23
	0.054	3.88	0.030	2.16
	0.053	3.81	0.030	2.16
平均值	0.053	3.81	0.031	2.23
$\pm S$	± 0.0007	± 0.049	± 0.0007	± 0.049

时变异系数为 2.2%。

4. 干扰

为了检验氨基酸是否也能被部分氧化成 NO_2^- , 从而干扰 NH_4^+-N 的测定, 选取几种常用氨基酸做干扰实验, 测定不同浓度的氨基酸对结果造成的影响(图 3)。结果表明, 所选氨基酸总浓度高至 $3 \times 10^{-6} \text{g/L}$ 时对测定结果没有明显干扰, 可以认为在一般自然海水中, 氨基酸对本法不会造成干扰。

图3 氨基酸对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 测定的影响Fig. 3 Effects of Amino-acids on the determination of $\text{NH}_4^+\text{-N}$

5. 海水样品测定

曾在青岛附近取不同地点的水样,用该法和我国规范方法测定了 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量。为避免海水中 Ca^{2+} , Mg^{2+} 沉淀,测定海水样品时需加掩蔽剂(每 100ml 海水样品预先加入 10ml 掩蔽剂)^[4]。表 6 结果表明,两法所测结果差值多数在 10% 以内,证明了结果的一致性。而多次实验证明,用手工法所测的校准曲线的回归系数均不如该法好。

表 6 青岛近海不同取样点的测定结果对比

Tab. 6 Detection result comparison of samples from different spots of Qingdao seashore with two methods

取样地点	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量 ($\mu\text{mol/L}$)		
	rFIA 法	规范方法	Δ
麦岛	1.03	1.00	0.03
栈桥	1.60	1.34	0.26
太平角	0.73	0.70	0.03
鲁迅公园	1.60	1.50	0.10
团岛	5.50	6.20	-0.70

参 考 文 献

- [1] 刁焕祥, 1983. 自动分析仪次溴酸钠氧化法测定海水中氨氮的研究. 海洋科学 1: 25—28.
- [2] 陆贤昆、康代温、梁 滨, 1989. 海水营养盐自动测定研究 I. 硝酸盐和亚硝酸盐反流动注射测定. 海洋化学论文集. 海洋出版社, 113—123 页.
- [3] Hirokazu Hara, Atsushi Motoike and Satoshi Okazaki, 1987. Alternate washing method for flow-through determination of ammonium ion using an ammonium gas electrode. *Anal. Chem.* 59(15): 1995—1999.
- [4] Hirokazu Hara, Atsushi Motoike and Satoshi Okazaki, 1988. Concentrations of ammonium ions using a gas bialysis concentrations of ammonium and a gas electrode detector system. *Analyst* 113(1): 113—115.
- [5] Johnson Kenneth S. and Robert L. Petty, 1982. Determination of phosphate in sea water by flow injection analysis with injection of reagent. *Anal. Chem.* 54(7): 1185—1187.
- [6] Johnson, T. J. and B. L. Petty, 1983. determination of nitrite and nitrate in seawater by flow injection analysis. *Limnol. Oceanogr.* 28(6): 1260—1266.
- [7] Krug, F. J., J. Ruzicka and E. H. Hansen, 1979. Determination of Ammonia in low concentrations with Nessler's Reagents by flow injection analysis. *Analyst* 104(1234): 47—54.
- [8] Riley, J. P. and G. Skirrow eds, 1985. *Chemical Oceanography*, Vol. 2. Science Press, 667 pp.
- [9] Son M. van, R. C. Schothorst and C. Den Boef, 1983. Determination of total ammoniacal nitrogen in water by flow injection analysis and a gas fusion membrane. *Anal. Chim. Acta* 153: 271—275.

- [10] Tohru Kuwaki, Masanori Akika Mitusuko Oshima and Shoji Motomizu, 1987. Determination of ammoniacal nitrogen in water by FIA with Gas diffusion Unit. *Bunseki Kagaku* **36**(8): T81--84.
- [11] Thomsen Jens, Kenneth S. Johnson and Robert I. Petty, 1983. Determination of reactive silicate in seawater by Flow Injection Analysis. *Anal. Chem.* **55**(14): 2378--2382.

ON THE AUTOMATIC DETERMINATION OF NUTRIENT IN SEAWATER

II. DETERMINATION OF AMMONIUM ION WITH REVERSE FLOW INJECTION ANALYSIS

Lu Xiankun, Kang Daiwen and Hong Weiliang

(*Ocean University of Qingdao, 266003*)

ABSTRACT

The method for the determination of seawater ammonia, being oxidized to nitrite by sodium hypobromite, with rFIA is described. By means of factor design and simplex, the optimum conditions for the determination are reached. The oxidation ratio over 80% and the detection limit with 0.13 $\mu\text{mol/L}$ are achieved. With the operation automation the precision of the spectrophotometry is also improved significantly with the variation coefficient of 2.2% at the level of 2.23 $\mu\text{mol/L}$. The salt effect is less than 2% and the recovery for control samples is about 102%. The dynamic range of the method can expand to 20 $\mu\text{mol/L}$ and the measurement rate of 60 samples per hour has been gotten in. Amino acids up to 3 mg/L do not interfere the determination of ammonium ion. The samples from Qingdao coastal zone were taken and determined with the rFIA and manual method of routine analysis. The results obtained by the two methods are comparable. The better reproducibility of rFIA method has been noticed.