

化学发光法测定天然水体中低浓度硝酸盐和亚硝酸盐的含量

王 燕, 刘素美, 任景玲, 张桂玲

(中国海洋大学 海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100)

摘要: 传统分光光度法测定硝酸盐和亚硝酸盐含量时检测限较高, 无法测定部分海洋表层及寡营养盐海域低含量的硝酸盐和亚硝酸盐浓度, 急需采用一种新的测定低浓度硝酸盐和亚硝酸盐的方法。化学发光法用于测定水体中硝酸盐和亚硝酸盐含量, 具有灵敏度高、检测限低、样品用量少, 不受悬浮颗粒物、有色物质影响及样品批量测定等优点。本文通过探索载气流速、反应温度、还原剂浓度及酸度等关键因素对反应信号值的影响, 在实验室建立了用化学发光测定天然水体中硝酸盐和亚硝酸盐含量的方法, 并确定了最佳实验条件。该方法测定水体中硝酸盐和亚硝酸盐浓度的检测限为 10 nmol/L, 当样品浓度为 200、400 nmol/L 时, 精密度分别为 5% 和 3%。

关键词: 硝酸盐; 亚硝酸盐; 化学发光法; 低浓度; 天然水体

中图分类号: P734.4+4

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)05-0095-05

无机氮作为海洋浮游植物生长必需的营养元素, 在海洋生物地球化学循环过程中起着重要的作用。传统的亚硝酸盐的测定方法是重氮偶氮分光光度法, NO_3^- 是通过镉铜柱还原成 NO_2^- 后按照 NO_2^- 的方法测定。传统的分光光度法测定海水中 NO_3^- 和 NO_2^- 的检测限分别为 100 nmol/L 和 20 nmol/L^[1]。而大洋中存在很多寡营养盐海区, 这些海域的 NO_3^- 和 NO_2^- 浓度很低, 如西弗罗里达陆架海区, NO_3^- 和 NO_2^- 浓度总和仅为 60 ~ 110 nmol/L, 无法用传统分光光度法测定^[2-3]。

国外学者研究用化学发光法测定氮氧化物已经有很长的历史。1970 年 Fontijn 等^[4]首先用化学发光法测定空气中的 NO; 1980 年 Cox^[5]首次用化学发光法测定水体中低浓度的硝酸盐和亚硝酸盐; 1982 年 Garside^[6]成功用此法测定海水中的 NO_3^- 和 NO_2^- ; 1989 年 Braman 等^[7]改进了方法的还原剂, 实现了样品的批量测定。

化学发光法测定水体中 NO_3^- 可选用的还原剂有 $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ - $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ 混合试剂^[5-6]、 VCl_3 ^[7]、 TiCl_3 ^[8]等, 反应需要较高的温度(85 ~ 95℃)和较强的酸性条件(pH < 1); 此法测定 NO_2^- 时反应条件较测定 NO_3^- 时温和, 可选室温及还原性较弱的还原剂, 如 NaI ^[3,5,6]、 Vc-HAc ^[9]等。 NO_3^- 对用 VCl_3 测定 NO_2^- 存在干扰, 不适合 NO_2^- 的测定。

还原剂 VCl_3 与 $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ - $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ 混合

试剂相比, 具有反应酸度较低、可批量测定样品的优势; 而混合试剂反应时酸度较高, 只能测定单个样品^[7]。两者相比, 用 VCl_3 作反应的还原剂比混合试剂更具优势。本研究基于文献^[5-7]等报道的化学发光法, 选 VCl_3 作反应的还原剂, 通过探索载气流速、反应温度、还原剂浓度及酸度等关键实验条件对反应信号值的影响, 建立了用化学发光测定天然水体中低浓度硝酸盐和亚硝酸盐含量的方法, 并确定了最佳实验条件。

1 试剂与方法

1.1 仪器和试剂

氮氧化物化学发光仪(美国 Teledyne 公司); N2000 色谱工作站(浙江大学智达信息工程有限公司); 高纯氮气(99.9999%); 滤膜(0.45μm); VCl_3 (美国 Alfa Aesar 公司); HCl (优级纯); NaOH (优级纯)。

1.2 实验原理

化学发光法测定水体中硝酸盐和亚硝酸盐的原

收稿日期: 2009-06-20; 修回日期: 2009-09-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(40876054, 40730847); 教育部科学技术研究重点项目(108081); 科技部国家重点基础研究发展计划项目(2006CB4006)

作者简介: 王燕(1984-), 女, 山东泰安人, 硕士研究生, 主要从事海洋中无机氮的研究, 电话: 15140545384, E-mail: wyzplforever@163.com

理是：将硝酸盐和亚硝酸盐选择性地还原为 NO 后，NO 与臭氧反应生成激发态 NO₂^{*}，激发态 NO₂^{*}在返回基态的过程中放出光子，产生化学发光。当臭氧过量时，反应放出的光子数与 NO 浓度呈正比^[5]，即反应信号值与硝酸盐和亚硝酸盐含量成正比。

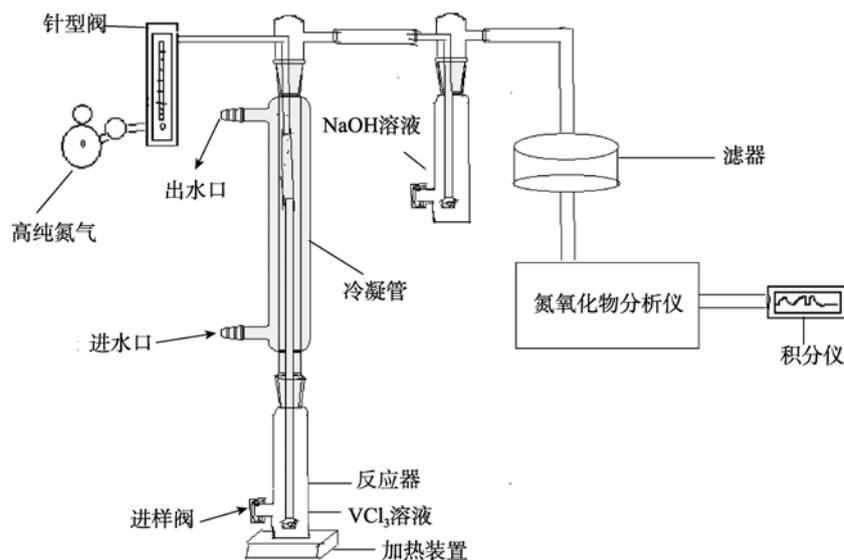
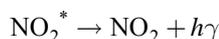
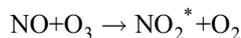


图 1 化学发光法测定硝酸盐、亚硝酸盐实验装置图

Fig. 1 Apparatus arrangement

1.3 实验方法

在反应器中加入 10 mL VCl₃，调节反应温度，通过进样阀将样品注入反应器中，反应生成的 NO 在高纯氮气的载带下先后经冷凝管(冷凝水蒸气)、NaOH 溶液(除酸性气体)、微孔过滤器(0.45 μm 滤膜)后进入氮氧化物化学发光仪，与 O₃ 反应，产生化学发光，记录信号值(图 1)。

2 结果与讨论

2.1 最佳实验条件探索

2.1.1 反应温度对反应信号值的影响

实验中测定了从 80 ~ 200℃ 选择的 13 个温度下的反应信号值(积分峰高信号、积分峰面积信号)随温度的变化趋势(图 2)。积分峰高信号值随反应温度的升高呈现先增加后基本保持不变的变化趋势。积分峰面积信号值则受温度影响较小，当反应温度高于 120℃ 时，积分峰面积信号值基本保持不变，各信号值之间相对标准偏差为 2.94%。选反应过程中信号较稳定的积分峰面积作反应信号，同时选 150℃ 为最佳反应温度。

2.1.2 还原剂 VCl₃ 浓度对反应信号值的影响

通过改变还原剂浓度，实验测定了 0.01 ~ 0.175 mol/L 浓度范围内，12 组不同浓度下反应信号随还原剂浓度的变化趋势。反应信号(积分峰高信号、积分峰面积信号)随 VCl₃ 浓度的变化趋势与反应温度相似(图 3)。积分峰高信号值随 VCl₃ 浓度的增加先增大，

当 VCl₃ 浓度大于 0.03 mol/L 时积分峰高信号值缓慢增加。积分峰面积信号值随 VCl₃ 浓度的增加基本保持不变，仅当 VCl₃ 浓度小于 0.03 mol/L 时，积分峰面积信号值稍大。选反应过程中信号较稳定的

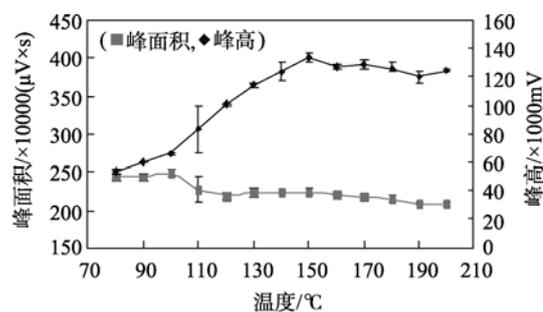


图 2 温度对反应信号值的影响(数据均为 3 次平行测定结果)

Fig.2 The effect of temperature on nitrate response signals (The values are the mean of 3 determinations for each experimental condition)

实验条件: 10 mL 0.1 mol/L VCl₃; 1 mol/L HCl; 载气流速 480 mL/min; 硝酸盐浓度 4 μmol/L; 进样体积 200 μL

Experiment conditions: 10 mL of 0.1mol/L VCl₃, 1 mol/L HCl; flow rate 480 mL/min; nitrate concentration, 4 μmol/L; inject volume, 200 μL

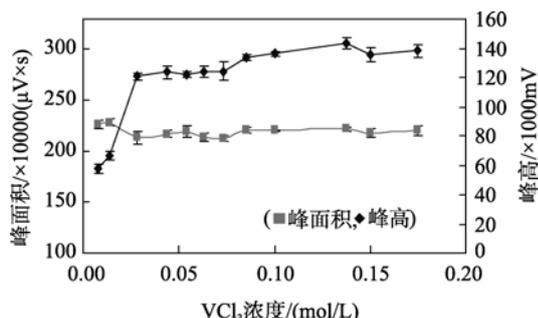


图3 还原剂 VCl₃ 浓度对反应信号值的影响(图中数据均为 3 次平行测定的结果)

Fig. 3 The effect of VCl₃ concentration on nitrate response signals

(The values are the mean of 3 determinations for each experimental condition)

实验条件: 10 mL VCl₃; 1 mol/L HCl; 温度 150°C; 载气流速 480 mL/min; 硝酸盐浓度 4 μmol/L; 进样体积 200 μL

Experiment condition: 10 mL VCl₃, 1 mol/L HCl; temperatue 150°C; flow rate 480 mL/min; nitrate concentration, 4 μmol/L; inject volume, 200 μL

积分峰面积作反应信号, 同时选 VCl₃ 最佳反应浓度为 0.1 mol/L。

2.1.3 HCl 浓度对反应信号值的影响

通过改变 HCl 浓度, 测得 12 组不同浓度下的反应信号值(积分峰高、峰面积信号值)(图 4)。本组实验中, 积分峰高信号、积分峰面积信号变化相似, 均随 HCl 浓度的增加先增加后基本保持不变。实验结果表明, 当 HCl 浓度大于 0.5 mol/L 时, 积分峰高信号、积分峰面积信号基本保持不变。为确保样品的批量测定, 选 HCl 最佳反应浓度为 2 mol/L。

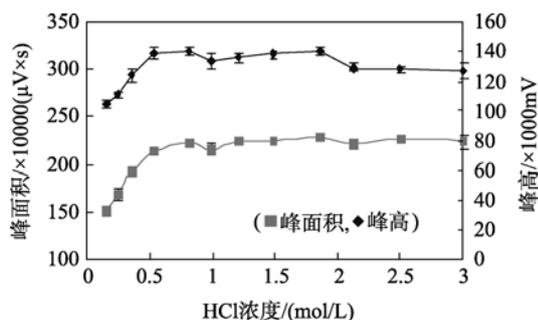


图4 HCl 浓度对反应信号值的影响(图中数据均为 3 次平行测定的结果)

Fig. 4 The effect of the HCl concentration on nitrate response signals

(The values are the mean of 3 determinations for each experimental condition)

实验条件: 10 mL 0.1 mol/L VCl₃; 温度 150°C; 载气流速 480 mL/min; 硝酸盐浓度 4 μmol/L; 进样体积 200 μL

Experiment condition: 10 mL of 0.1 mol/L VCl₃; temperatue 150°C; flow rate, 480 mL/min; nitrate concentration, 4 μmol/L; inject volume, 200 μL

2.1.4 载气流速对反应信号值的影响

实验测定了 7 组载气流速下的反应信号值(积分峰高及峰面积信号值), 实验结果表明积分峰高信号及积分峰面积信号值随载气流速的增加不存在较稳定的信号值(图 5)。载气流速增加, 积分峰高信号值先增加后降低, 当流速为 480 mL/min 时积分峰高信号值最大。积分峰面积信号值则随载气流速的增加而逐渐降低。参照仪器测定空气时的流速, 选 480 mL/min 为最佳流速。

综合载气流速、反应温度、还原剂浓度及酸度等实验条件对反应信号值的影响, 选较稳定的积分峰面积信号作反应信号值, 同时选 0.1 mol/L VCl₃、2 mol/L HCl、150°C 和 480 mL/min 载气流速作为臭氧化学发光法测定天然水体中硝酸盐和亚硝酸盐含量的最佳反应条件。

2.2 化学发光法测定硝酸盐和亚硝酸盐含量的盐效应

配制 8 组已知浓度、盐度不同的样品, 用化学发光法测定样品中硝酸盐和亚硝酸盐含量, 反应的回收率在 97% ~ 103% 之间(表 1), 表明盐度对化学发光法测定水体中的硝酸盐和亚硝酸盐含量没有影响。

2.3 化学发光法测定硝酸盐和亚硝酸盐含量的回收率

选取 12 组不同浓度的天然海水、雨水及河水样品, 向其中加入硝酸盐标准溶液(表 2)。此法测定硝酸盐和亚硝酸盐含量的回收率在 88.9% ~ 111.1% 之间, 大多在 95% ~ 105% 之间。

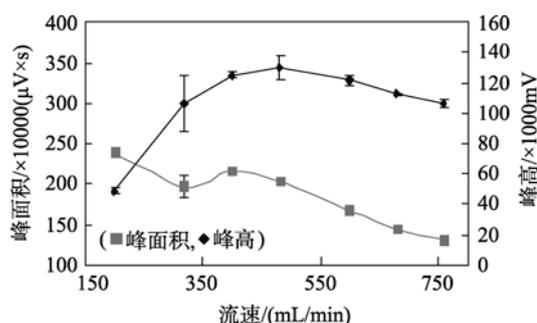


图5 载气流速对反应信号值的影响(图中数据均为 3 次平行测定的结果)

Fig. 5 The effect of flow rate on nitrate response signals (The values are the mean of 3 determinations for each experimental condition)

实验条件: 10 mL 0.1 mol/L VCl₃; 1 mol/L HCl; 温度 150°C; 硝酸盐浓度 4 μmol/L; 进样体积 200 μL

Experiment condition: 10 mL of 0.1 mol/L VCl₃, 1 mol/L HCl; temperatue 150°C; nitrate concentration, 4 μmol/L; inject volume, 200 μL

表 1 盐度对化学发光法的影响

Tab. 1 The Effect of salt concentration on the measured values

盐度	理论浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	测量浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	回收率 (%)
34.0	20.0	20.0	100.2
22.7	13.3	13.7	102.6
17.0	10.0	10.3	102.6
11.3	6.7	6.6	99.1
8.5	5.0	4.9	97.9
6.8	4.0	3.9	97.6
4.3	2.5	2.5	100.4
3.1	1.8	1.8	101.2

表 2 天然水体加标实验

Tab. 2 Natural waters spiked with standard materials

水体类型	本底浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	回收率 (%)
海水(冷冻保存)	3.23	1.92	100.7
	8.12	3.70	103.6
	8.84	3.70	107.0
	0.15	0.095	101.1
	0.25	0.095	103.5
雨水(氯仿保存)	0.19	0.095	111.1
	12.7	4.55	102.8
	18.9	6.52	99.2
大沽河河水 (HgCl_2 保存)	9.01	3.70	100.6
	4.13	2.38	100.3
	6.21	2.86	103.3
	10.7	2.38	90.6

2.4 化学发光法测定硝酸盐和亚硝酸盐含量的检测限、精密度

化学发光法测定硝酸盐和亚硝酸盐主要是测定 NO 气体的物质的量, 与反应中的样品浓度没有直接关系。实验中测定了 200 μL 和 1 mL 两种进样体积下的工作曲线, 如表 3 所示。

表 3 工作曲线

Tab. 3 Calibration curves

进样体积	工作曲线	<i>Sd</i>	R^2
200 μL	$y = 620.36x - 11243$	± 16.1	0.99 ~ 0.9999
1 mL	$y = 3134x + 54330$	± 124.5	0.99 ~ 0.9999

注: x 表示硝酸盐和亚硝酸盐含量的摩尔浓度(nmol/L); y 表示反应信号值; Sd 表示斜率的标准偏差

平行测定 5 组超纯水样品, 根据检测限等于 3 倍样品标准偏差的定义, 测得化学发光法测定天然水体中硝酸盐及亚硝酸盐含量的检测限为 10 nmol/L ; 当样品浓度为 200 nmol/L 、400 nmol/L 时, 精密度分别为 5% 和 3%。

2.5 方法优缺点

化学发光法测定天然水体中硝酸盐和亚硝酸盐的含量, 具有灵敏度高、检出限低、样品用量少、样品批量测定、不受悬浮颗粒物及有色物质影响等优点。同时, 此法干扰杂质少, 亚硝基化合物中, 只有亚硝基二苯胺产生 NO, 烷基类硝酸盐和亚硝酸盐在酸性条件下可分解生成 NO_3^- 和 NO_2^- 离子, 对反应产生干扰^[4-7]。但与营养盐自动分析仪相比, 此法测定样品时间稍长, 每个样品需 3 min, 测样速度稍慢。

3 化学发光法与传统分光光度法结果对比

分别用分光光度法和化学发光法测定中国近海、高隆湾、海南万泉河等 50 组样品中的硝酸盐和亚硝酸盐含量(图 6)。两组数据之间的相对误差为 3.65%, 呈现显著的线性相关。实验结果表明用两种方法测定天然水体中硝酸盐与亚硝酸盐含量方法具有一致性, 不存在显著差异。

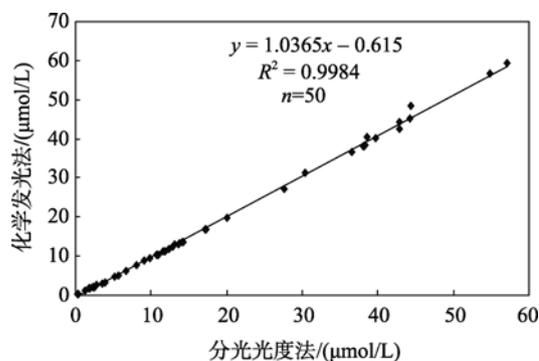


图 6 传统分光光度法与化学发光法分别测定天然水体中硝酸盐和亚硝酸盐含量的对比

Fig. 6 Correlation between the chemiluminescent technique and the conventional spectrophotometric method

4 小结

(1) 通过各项实验条件探索, 建立了化学发光法测定天然水体中硝酸盐和亚硝酸盐含量的方法, 并确定了实验的最佳反应条件, 即: VCl_3 浓度 0.1

mol/L、HCl 浓度 2 mol/L、反应温度 150℃和载气流速 480 mL/min。

(2) 化学发光法测定天然水体中硝酸盐和亚硝酸盐含量的回收率在 95%~105%之间, 检测限为 10 nmol/L, 当样品浓度为 200 nmol/L、400 nmol/L 时, 精密度分别为 5%和 3%。

(3) 同传统分光光度法一样, 盐度对化学发光法测定天然水体中硝酸盐和亚硝酸盐含量也没有影响。

参考文献:

- [1] Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M. *Methods of Seawater Analysis* (Third edition)[M]. Weinheim: Verlag Chemie, 1999.
- [2] Masserini R T, Fanning K A. A sensor package for the simultaneous determination of nanomolar concentrations of nitrite, nitrate, and ammonia in seawater by fluorescence detection[J]. *Marine Chemistry*, 2000, 68: 323-333.
- [3] 朱炳德, 刘素美, 张经, 等. 海水中低浓度亚硝酸盐和硝酸盐测定方法综述[J]. *海洋学研究*, 2007, 25(2): 36-45.
- [4] Fontijn A, Sabadell A J, Ronco R J. Homogeneous chemiluminescent measurement of nitric oxide with ozone[J]. *Analytical Chemistry*, 1970, 42(6): 575-579.
- [5] Cox R D. Determination of nitrate and nitrite at the parts per billion level by chemiluminescence[J]. *Anal Chem*, 1980, 52: 332-335.
- [6] Garside C. A chemiluminescent technique for the determination of nanomolar concentration of nitrate and nitrite in seawater[J]. *Marine Chemistry*, 1982, 11: 59-167.
- [7] Braman R S, Hendrix S A. Nanogram nitrite and nitrate determination in environmental and biological materials by vanadium(III) Reduction with chemiluminescence detection[J]. *Anal Chem*, 1989, 61: 2715-2718.
- [8] Zafiriou O C, Ball L A, Hanley Q. Trace nitrite in ocean water[J]. *Deep-Sea Research*, 1992, 39: 1329-1347.
- [9] Nagababu E, Rifkind J M. Measurement of plasma nitrite by chemiluminescence without interference of S-,N-nitroso and nitrated species[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2007, 42: 1146-1154.
- [10] Dore J E, Karl D M. Nitrite distributions and dynamics at Station ALOHA[J]. *Deep-Sea Research II*, 1996, 43(2-3): 385-402.

Chemiluminescent measurement of low concentrations of nitrate and nitrite

WANG Yan, LIU Su-mei, REN Jing-ling, ZHANG Gui-ling

(Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Received: Jun., 20, 2009

Key words: nitrate; nitrite; low concentration; natural water; chemiluminescence

Abstract: Chemiluminescent technique was applied for the determination of nanomolar quantities of nitrate and nitrite. Suspended particles and chromophores did not interfere and were hence not necessary to be removed. The optimal experimental conditions with detection limit of 10 nmol/L were set up in the laboratory. The relative standard deviation was 5% at the 200 nmol/L level and 3% at the 400 nmol/L level. At wider detected range, greater accuracy and precision were obtained for this technique comparing to the conventional spectrophotometric methods. Consistent results were obtained when the concentrations of nitrate and nitrite in seawater and river water samples were measured using these two methods.

(本文编辑: 康亦兼)