

基于顺序注射分析的海水亚硝酸盐快速检测方法研究

杨泽明^{1,2}, 李 彩^{1*}, 卢桂新¹, 曹文熙¹

1. 热带海洋环境国家重点实验室, 中国科学院南海海洋研究所, 广东 广州 510301
2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘 要 为实现海水亚硝酸盐的快速检测, 使测量过程更适用于在线监测, 对前期已有的顺序注射分析技术进行了优化, 结合自主研制的 Z 型高灵敏度液芯波导样品池和多适应环管器, 基于分光光度检测方法, 在不完全显色反应的基础上, 建立了一种海水亚硝酸盐快速全自动检测方法。进样技术中高精度注射泵与多通道选择阀配合, 顺序吸入样品和试剂至储液盘管后, 再反推至混合盘管, 期间发生不完全显色反应, 并最终由注射泵将显色混合溶液缓推过 Z 型液芯波导样品池, 同步流动检测溶液吸光度变化, 结合朗伯比尔定律最终获取待测亚硝酸盐溶液浓度。为达到稳定且快速分析的目的, 分析了测量方法中几个关键参数, 如不完全显色反应时间、检测时流速和盐度对测量结果的影响, 寻求最佳的技术及参数组合。不完全显色反应研究表明, 在 10~60 s 显色时间范围内, 吸光度检测结果的相对标准误差(RSD)均不超过 1.64%, 说明 10~60 s 的显色时间对本方法无影响, 因此选择 10s 作为快速检测方法的显色反应时间。通过对不同流速情况下样品检测结果的分析发现, 流速过快会导致检测不稳定, 过慢则不利于快速分析, 选择吸光度测量较为稳定的 10, 11.6, 13 和 15 $\mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ 四个流速, 对测量结果的稳定性和重复性进行分析, 结果表明, 上述四个流速下的线性效果都很好, 因此, 选择最快的 15 $\mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ 作为该方法的检测流速。为验证该方法对盐度的敏感性, 以适应淡水和大范围海水为出发点, 研究分析了 0~35 盐度范围内, 三种不同浓度(150, 250, 350 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)亚硝酸盐溶液的吸光度变化情况, 得到的 RSD 分别为 1.39%, 2.03% 和 1.28%, 证明盐度对本方法的吸光度测量基本无影响。对 80, 150 和 250 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 亚硝酸盐标准溶液平行测定 11 次得到的 RSD 分别为 2.13%, 1.07% 和 1.83%, 说明本方法精密度较好。通过对空白样品进行 10 次平行样测量, 计算得到本方法检出限为 37 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (约 0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。为验证本方法的可信度, 利用该快速检测方法和《海洋调查规范》标准测量方法对同一批次亚硝酸盐标准溶液制作标准曲线, 二者的 R^2 均大于 0.999, 对同一浓度样品两种方法得到的测量结果数据拟合线性回归方程为 $y=1.0461x-0.0057$, $R^2=0.9996$, 说明两种检测方法结果高度一致, 更进一步验证了该研究快速测量方法的可行性和可靠性。亚硝酸盐快速检测方法测样速率高达 50 样 $\cdot \text{h}^{-1}$, 与传统的人工检测和流动注射分析方法相比, 亚硝酸盐的测量耗时从十几分钟缩短到 1 min 左右, 检测分析过程中样品和试剂消耗量极少, 测量过程重复性好, 整个测量过程全自动进行, 操作更为简单智能, 避免了人工介入带来的误差, 使得基于分光光度的营养盐要素在线及原位检测系统更加小巧、快速和低耗, 更适用于现场在线及长时间序列监测, 具有很广的应用范围和较好的应用前景。

关键词 亚硝酸盐; 顺序注射分析; 分光光度法; 快速检测; 不完全显色

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)02-0589-07

引 言

海洋氮循环在海洋生物和化学研究中起着至关重要的作

用^[1-3]。亚硝酸盐作为氮循环中铵盐和硝酸盐的重要中间物^[3-4], 是衡量海水富营养化、评价水质质量的重要指标之一, 对海洋氮循环和生态环境等问题的研究具有重要意义^[5], 因此亚硝酸盐的有效快速分析对近岸水质预警预告及

收稿日期: 2018-01-29, 修订日期: 2018-05-16

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC1400603), 广东省科技计划(2016A020222008), 中国科学院科研装备项目(2010042), 国家海洋公益性项目(20130519)资助

作者简介: 杨泽明, 1994 年生, 中国科学院南海海洋研究所硕士研究生 e-mail: zmyang@scsio.ac.cn

* 通讯联系人 e-mail: liclaire@scsio.ac.cn

海洋氮循环研究至关重要。

传统的海水营养盐检测是基于《海洋调查规范》中的人工操作方法^[6]。该方法需要将海水贮存起来,然后在实验室进行人工测定,样品易污染、测量时间长,难以适用于长时间序列预警监测及深远海氮循环研究。随着海洋环境监测技术要求的提高,海水营养盐检测正逐步从实验室向现场在线全自动化方向转移。流动分析技术的出现和发展从根本上推动了这一转移过程,从而实现样品预处理的自动化、微型化,极大地提高了整个分析过程的效率和可靠性,降低样品污染风险和试剂消耗^[7]。近些年来,一些科研人员利用流动注射分析技术(flow injection analysis, FIA)对海水营养盐的检测进行了研究。林坤宁等^[8]基于自主研发的无阀连续流动分析系统建立了一种快速的海水硝酸盐检测方法。Feng等^[9]等采用反向流动注射分析技术(reverse flow injection analysis, rFIA)和分光光度法,用 1 m 的液芯波导(LWCC)作为样品池,研发了海水硝酸盐和亚硝酸盐同步测量系统。Adornato等^[10]利用 FIA 和 LWCC 研制了可测量寡营养海域痕量硝酸盐及磷酸盐检测设备——SEAS(spectrophotometric elemental analysis system)。Ellis^[11]等采用 FIA 和分光光度法,对海水、河口和淡水水体中的硝酸盐进行了测量。流动注射分析技术基于蠕动泵和电磁阀,系统体积较大、仪器结构及工作控制过程复杂、样品和试剂的物化混合均匀度和重复性差、试剂及样品消耗量大。

在流动注射分析基础上发展起来的顺序注射分析(sequential injection analysis, SIA)^[12]相比流动注射分析具有集成度高、流动管路少、试剂消耗少及可控度高等优点。目前国外已有基于 SIA 的海水营养盐商业化仪器和分析系统,如 Green Eyes 公司 EcoLAB II 和 NuLAB 多通道原位营养盐分析仪以及 EnviroTech 公司的 NAS-3X 原位营养盐分析仪,但国内对于此方面的研究较少。有研究以 SIA 和分光光度法研制了海水硝酸盐/亚硝酸盐原位快速测量仪,在实现原位测量的同时,测量时间缩短至 4 min。韩双来等^[13]针对环境监测领域,研制了一种基于 SIA 的总氮在线分析仪。此分析仪检测单元简单、生产成本低、测量精度高、试剂消耗和废液产生量少,适合于环境监测等领域的长时间在线分析。

本工作参考前期对顺序注射进样技术和海水营养盐检测方法的研究^[14],以提高仪器的集成度,提升营养盐检测速度为最终目标,优化了顺序注射分析系统,以分光光度法为检测手段,通过分析不完全显色反应时间、流动检测速度和海水盐度等参数对检测的影响,在确保数据可靠性的前提下将检测时间控制到最短(70 s),样品和试剂用量控制到最少(不超过 1 mL)。利用本方法得到的亚硝酸盐检测精密度较高,不超过 2.5%。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

进样及检测系统采用的设备如下: Maya2000pro 光谱仪和 HL-2000-LL 卤钨光源(美国 Ocean Optics 公司); PSD/4 注射泵、MVP 8 通道选择阀和 Y 型阀(美国 Hamilton 公

司);夹管阀(美国 BEION 公司);内径 0.8mm PTFE 管路和内径 1/16 英寸硅胶管(中国润泽流体);自主研发的 3D 打印环管器;自主研发的 Z 型液芯波导样品池(光程长 6 cm);数据采集和进样软件采用自主编写的自动进样及检测软件。

研究所用试剂均来自广州化学试剂厂,均为分析纯。实验用水均为超纯水(电阻率>18 MΩ·cm)。盐酸溶液:量取 166.6 mL 的 12 mol·L⁻¹浓盐酸稀释至 1 L。磺胺溶液:2.5 g 对氨基苯磺酰胺(NH₂SO₂C₆H₄NH₂)溶于 175 mL 上述盐酸溶液,稀释至 250 mL。盐萘溶液:0.25 g 1-萘替乙二胺二盐酸盐[C₁₀H₇NHCH₂CH₂NH₂(2HCl)]稀释至 250 mL。亚硝酸盐标准储备溶液:c(NO₂⁻)=1.000 mg·mL⁻¹。亚硝酸盐标准使用溶液:c(NO₂⁻)=0.010 mg·mL⁻¹,取 1 mL 上述亚硝酸盐标准储备溶液稀释至 100 mL。

1.2 方法

检测原理为分光光度法,理论基础为朗伯比尔定律,即一束单色光通过溶液后,溶液的吸光度与被测物质的浓度和液层厚度的乘积成正比^[15]。表达式为

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = \epsilon bc$$

式中:A 为溶液吸光度;I₀ 为入射光强;I_t 为透射光强;ε 为溶液的摩尔吸收系数;b 为液层厚度(单位:cm),研究中为光程长度;c 为样品浓度。其中,ε 和 b 为常数。

亚硝酸盐检测方法采用重氮偶氮法,即将水样在酸性介质中与显色试剂磺胺和盐酸萘乙二胺混合,生成红色偶氮染料,于 543 nm 波长处进行分光光度检测。

基于顺序注射分析的亚硝酸盐进样及分光检测系统基本结构如图 1 所示。自动进样系统由夹管阀、Y 型选择阀、高精度注射泵、多通道选择阀(多通阀)、储液盘管和混合盘管组成,其中储液盘管和混合盘管均通过自主研发的环管器环绕 PTFE 管路而成。分光光度检测系统主要由光源、Z 型液芯波导样品池和光谱仪构成。开始进样前,首先启动夹管阀和注射泵吸入空气排空管路,然后通过注射泵和多通阀配合以较快速度顺序吸取水样和试剂到储液盘管中,此后利用注射泵将储液盘管中的溶液按照一定速度推入反应盘管,再将反应盘管中的混合液缓推经 Z 型液芯波导样品池排出。在混合溶液流经样品池时同步启动光谱仪按照一定频率对流动中

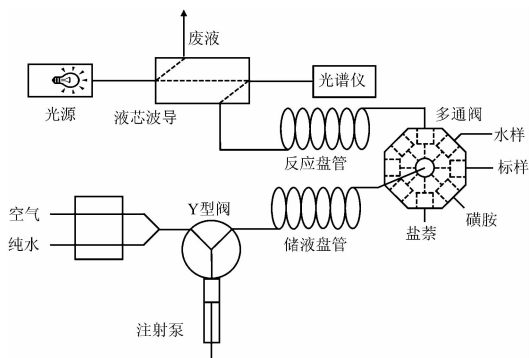


图 1 基于顺序注射分析的亚硝酸盐快速检测系统流程图

Fig. 1 Manifold configuration of SIA system for the determination of nitrite

的混合溶液进行吸光度检测。

快速检测原理基于样品的不完全显色反应。图 1 所示系统中,多通阀和注射泵配合工作,按照一定顺序和体积吸入样品和试剂到储液盘管后再将其反推入反应盘管,最后将其缓推流经样品池进行检测。在这一过程中,样品和试剂区带之间由于径向扩散和轴向对流作用而互相穿透引起相互渗透和混合,形成反应产物溶液堆栈区带^[6],如图 2(a)所示。图 2(b)和(c)所示为堆栈区带缓慢流经样品池时获取显色渐变的混合反应产物 P 的光谱情况和特征波段的吸光度变化。

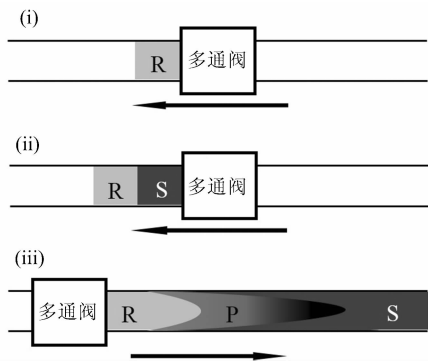


图 2(a) 顺序注射分析的混合过程

R: 试剂; S: 水样; P: 混合产物

Fig. 2(a) Mixing process of SIA

R: Reagent; S: Sample; P: Product

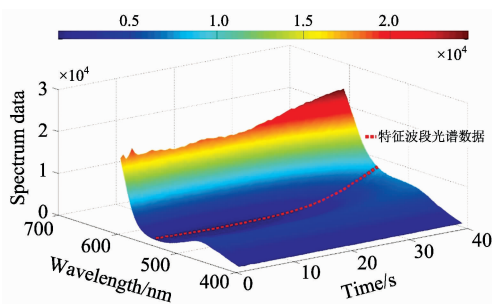


图 2(b) 实验获取显色渐变混合产物特征波段光谱数据

Fig. 2(b) Spectral data at feature band of gradient chromogenic reaction

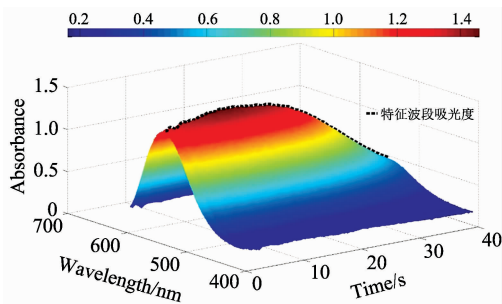


图 2(c) 与图 2(b)对应的显色渐变混合产物吸光度变化

Fig. 2(c) Absorbance changes of gradient chromogenic reaction

3 结果与讨论

3.1 亚硝酸盐检测参数的优化

实验在室温下进行,样品和试剂的进样速度均保持为 $100 \mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$,水样、磺胺溶液和盐萘溶液的体积比例为 $40:1:1$,优化实验的样品采用 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的亚硝酸盐试样。储液盘管和反应盘管长度分别为 2.1 和 1.6 m,内径均为 0.8 mm。分析过程中,为实现不完全反应条件下样品的最优化快速测量,对直接影响测量速度和精度的进样速度、显色反应时间进行最优化测试和选取,进样速度、进样量、显色反应时间及流动检测速度等关键参数均可通过软件进行调节。所有样品至少测定 3 次。

3.1.1 不完全显色反应时间

注射泵将储液盘管中的样品和试剂按照一定速度从储液盘管推至反应盘管的过程中,样品和试剂发生显色反应。不同的推进速度下,样品和试剂的物理混合和显色反应时间均不同,形成显色渐变的反应产物溶液堆栈区带吸光度也不相同。保持样品和试剂浓度不变,流动检测速度为 $10 \mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$,分析不同显色时间对吸光度的影响。

图 3(a)为显色时间在 10, 15, 30, 35, 40, 46, 50, 55 和 60 s 的情况下吸光度随时间的变化结果,图 3(b)为上述不同显色时间下吸光度处理结果。可以看出,显色时间从 10 s 到 60 s 的变化过程中,吸光度的相对标准误差 (RSD) 为 1.64%,基本无变化。因此,在确保测量精度的前提下,为

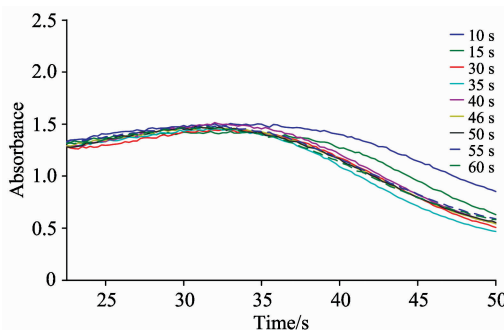


图 3(a) 不同显色时间下吸光度随时间的变化

Fig. 3(a) Absorbance changes with time of different mixing time

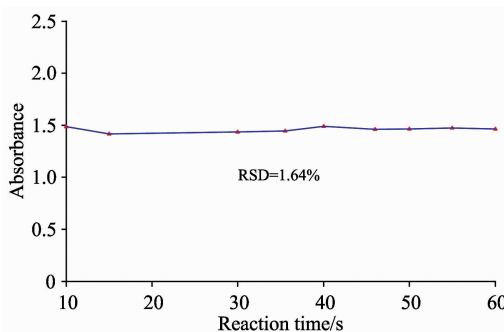


图 3(b) 不同显色时间对吸光度的影响

Fig. 3(b) Absorbance changes with different mixing time

达到快速检测的目的, 选择 10 s 作为系统的显色时间。

3.1.2 检测时的流速

在混合溶液流经样品池的过程中, 需要对其进行流动过程中的光谱检测。图 4 为不同检测流速下吸光度的检测效果。可以看出, 流速过快会造成检测的不稳定。因此, 为达到稳定且快速检测的目的, 选择 10, 11.6, 13 和 15 $\mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ 进行流速分析。在上述流速下, 对浓度梯度为 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 和 350 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的亚硝酸盐标准溶液进行测量, 分析不同检测流速时的测量效果。表 1 为不同流速下标准溶液的标准工作曲线、 R^2 和 RMSE。由表 1 可以看出, 各流速下标准工作曲线线性效果都很好, 为最大限度的缩短检测时间, 选择 15 $\mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ 的流速作为检测速度。

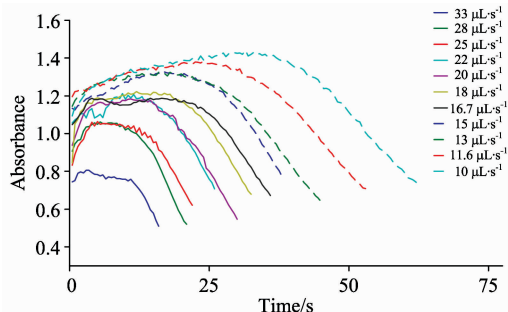


图 4 不同流速下的吸光度检测效果

Fig. 4 Absorbance detection effect at different flow speed

表 1 各流速下的标准曲线及相关性

Table 1 Standard curve equation and correlation at different flow speed

流速/ $(\mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1})$	方程	R^2	RMSE
15	$y=0.2329x+0.0009$	0.9996	0.0025
13	$y=0.2373x+0.0103$	0.9994	0.0028
11.6	$y=0.2687x-0.0068$	0.9994	0.0030
10	$y=0.2390x+0.0055$	0.9979	0.0055

3.2 测量效果

3.2.1 盐度的影响

为研究盐度对本快速测量方法的影响, 配置盐度为 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 的人工海水, 以上述盐度的人工海水作为基底, 配置浓度为 150, 250 和 350 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的亚硝

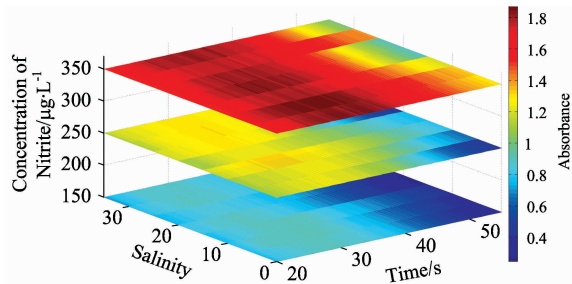


图 5(a) 不同盐度下三种不同浓度亚硝酸盐标准溶液吸光度随时间的变化

Fig. 5(a) Absorbance changes with time of three concentrations of nitrite standard solution in different salinity

酸盐标准溶液。图 5(a) 所示为不同盐度下, 浓度分别为 150, 250 和 350 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 亚硝酸盐标准溶液不完全显色条件下吸光度变化, 图 5(b) 为上述标准溶液吸光度随盐度的变化图。表 2 所列不同盐度下上述各浓度亚硝酸盐溶液吸光度值及 RSD。由图 5(b) 及表 2 可以看出, 盐度对所使用的快速检测方法基本没有影响, 由此可以推断该方法可适用于湖泊、江河及海水等不同水体中亚硝酸盐的高精度快速分析。

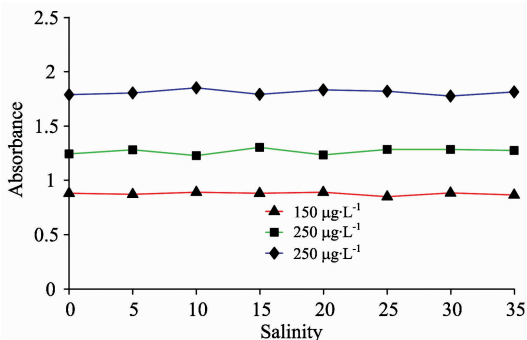


图 5(b) 不同盐度对吸光度的影响

Fig. 5(b) Absorbance changes with different salinity

表 2 不同盐度下各浓度亚硝酸盐标准溶液吸光度和 RSD

Table 2 Absorbance and RSD of different concentration of nitrite standard solution in different salinity

盐度	浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$		
	150	250	350
0	1.000	1.363	1.911
5	0.992	1.401	1.927
10	1.011	1.348	1.972
15	1.002	1.424	1.914
20	1.010	1.354	1.953
25	0.970	1.405	1.942
30	1.004	1.406	1.896
35	0.986	1.396	1.934
RSD/%	1.39	2.03	1.28

3.2.2 精密度、测样速率和检出限

对 80, 150 和 250 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的亚硝酸盐标准溶液分别平

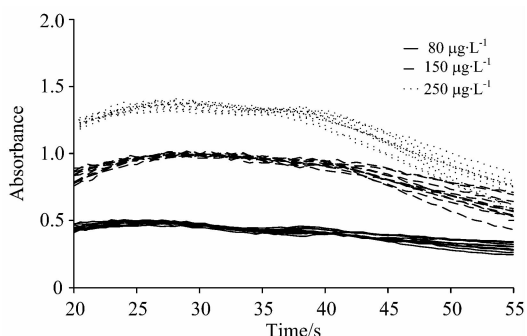


图 6 不同浓度亚硝酸盐标准溶液平行样测量吸光度随时间的变化

Fig. 6 Absorbance changes with time of different nitrite standard solution parallel samples

行测定 11 次, 其吸光度测量结果如图 6 所示。不同浓度下的吸光度及其标准差和 RSD 如表 3 所示。可以看出, 此快速检测方法测量精密度较好。

表 3 各浓度平行样测量吸光度值
Table 3 Parallel samples absorbance of different nitrite standard solution

次数	浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$		
	80	150	250
1	0.454	0.993	1.334
2	0.462	0.984	1.372
3	0.475	0.964	1.366
4	0.466	0.998	1.361
5	0.477	0.999	1.383
6	0.474	0.993	1.304
7	0.470	1.003	1.315
8	0.461	0.990	1.358
9	0.467	0.988	1.341
10	0.458	0.996	1.357
11	0.444	0.994	1.366
标准差	0.009 9	0.010 6	0.024 7
RSD/%	2.13	1.07	1.83

每一次样品测量从开始进样到测量结束仅需要 70 s 左右, 测样速率高达 $50 \text{ 样} \cdot \text{h}^{-1}$ 。对空白样品平行测量 10 次, 以空白检测值的标准偏差 3 倍除以标准曲线斜率为检出限, 在光程为 6 cm 时, 计算得到本方法检出限为 $37 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (约 $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

3.3 方法的验证

将此亚硝酸盐快速检测方法与《海洋调查规范》中亚硝酸盐测定方法(采用 PerkinElmer 公司的 Lambda 650s 紫外/可见分光光度计)进行对比以验证方法的可靠性和准确性。标准曲线均采用浓度为 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 和 $350 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的亚硝酸盐标准溶液测定, 两种方法(方法 1 为《海洋调查规范》中的亚硝酸盐测定方法, 方法 2 为本文的快速检测方法, 下同)得到的标准曲线分别为 $y=0.231 0x-0.001 3(R^2=0.999 8, \text{RMSE}=0.001 7)$ 和 $y=0.270 4x-0.030 2(R^2=0.999 7, \text{RMSE}=0.002 0)$ 。利用两种方法对不同浓度的亚硝酸盐溶液进行比测, 结果如表 4 所示。图 7 为两种方法得到的浓度进行线性拟合的结果, 可以看出, 两种检测方法结果基本相同。

References

- [1] Conley D J, Paerl H W, Howarth R W, et al. Science, 2009, 323(5917): 1014.
- [2] Elser J J, Bracken M E S, Cleland E E, et al. Ecology Letters, 2007, 10(12): 1135.
- [3] Kieber R J, Seaton P J. Analytical Chemistry, 1995, 67(18): 3261.
- [4] Dore J E, Karl D M. Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography, 1996, 43(2-3): 385.
- [5] Smith V H. Environmental Science and Pollution Research, 2003, 10(2): 126.
- [6] National Marine Environmental Monitoring Center(国家海洋环境监测中心). Specifications for Oceanographic Survey—Part 4: Survey of Chemical Parameters in Sea Water(海洋调查规范—第 4 部分: 海水化学要素调查), 1998.
- [7] YANG Ze-ming, LI Cai, XU Cong-hui, et al(杨泽明, 李彩, 徐聪辉, 等). Analytical Instrumentation(分析仪器), 2017, (4): 6.

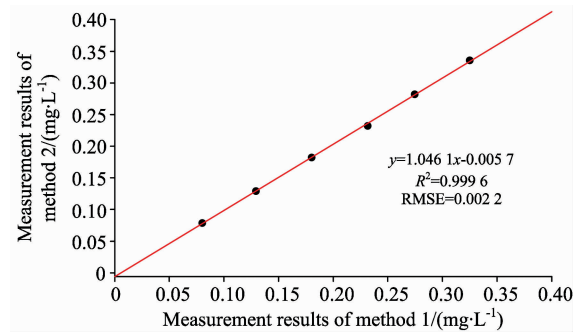


图 7 方法 1 与方法 2 测量结果比较

Fig. 7 Results comparison of method 1 and method 2

表 4 两种方法下不同浓度亚硝酸盐标准溶液测量结果

Table 4 Measurement results of different nitrite standard solution with two different methods

浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	测量值	
	方法 1 测量值	方法 2 测量值
0.08	0.080 0	0.079 2
0.13	0.129 1	0.129 6
0.18	0.180 2	0.182 7
0.23	0.231 4	0.232 7
0.28	0.274 6	0.282 2
0.33	0.324 9	0.336 0

4 结论

建立了一种基于顺序注射分析的海水亚硝酸盐分光光度快速检测方法。该方法流路简单、体积小、试剂消耗少, 且不受盐度影响。在对不完全显色反应的时间、流动检测的流速进行优化后, 整个检测过程耗时缩短至约 70 s, 测量速率高达 $50 \text{ 样} \cdot \text{h}^{-1}$ 。该方法精密度高(不超过 2.5%), 测量误差小, 光程为 6 cm 时其检测下限可达 $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与传统《海洋调查规范》中的测定方法相比, 测量结果高度一致, 亚硝酸盐的测量耗时从十几分钟缩短到 1 min 左右, 微量管路使得整个检测分析过程样品和试剂消耗量极少, 整个测量过程全自动进行, 避免了人工介入带来的误差, 使得采用分光光度法营养盐要素在线及原位检测系统更加小巧、快速和低耗。

- [8] LIN Kun-ning, MA Jian, YUAN Dong-xing, et al(林坤宁, 马 剑, 袁东星, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2017, (2): 151.
- [9] Feng S, Zhang M, Huang Y, et al. Talanta, 2013, 117: 456.
- [10] Adornato L R, Kaltenbacher E A, Greenhow D R, et al. Environmental Science & Technology, 2007, 41(11): 4045.
- [11] Ellis P S, Shabani A M, Gentle B S, et al. Talanta, 2011, 84(1): 98.
- [12] Ruzicka J, Marshall G D. Analytica Chimica Acta, 1990, 237(2): 329.
- [13] HAN Shuang-lai, XIANG Guang-hong, TANG Xiao-yan, et al(韩双来, 项光宏, 唐小燕, 等). Environmental Monitoring in China(中国环境监测), 2013, (3): 94.
- [14] LI Cai, SUN Zhao-hua, CAO Wen-xi, et al(李 彩, 孙兆华, 曹文熙, 等). Optical Technique(光学技术), 2009, 35: 579.
- [15] GAO Xiang-yang(高向阳). New Instrumental Analysis(新编仪器分析). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 1992. 26.
- [16] FANG Zhao-lun(方肇伦). Flow Injection Analysis(流动注射分析法). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 2003. 6.

A Study of Fast Detection of Nitrite in Seawater Based on Sequential Injection Analysis

YANG Ze-ming^{1, 2}, LI Cai^{1*}, LU Gui-xin¹, CAO Wen-xi¹

1. State Key Laboratory of Tropical Oceanography, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract An automatic fast determination method of nitrite in seawater was developed by optimizing the previous self-research of sequential injection analysis (SIA), combining our self-developed Z-type liquid waveguide capillary cell (LWCC) flow cell and tubing-looper, using spectrophotometry and incomplete chromogenic reaction to accomplish the automatic fast determination and make its measurement process more suitable for in-situ analysis and monitoring. The heart of the injection technology is a high-precision syringe pump and a multiposition valve (MVP). Cooperating with MVP, the syringe pump inhales samples and reagents in a holding coil in sequence, and then reversely pushes the mixed solution to the mixing coil and an incomplete chromogenic reaction occurred during this period. The syringe pump finally slowly pushes the mixed solution through the Z-type LWCC flow cell, meanwhile, the absorbance changes of flow solution is detected by a spectrometer, and the nitrite concentration of sample is acquired with Lambert-Beer law. Several key parameters of the fast detection method, such as incomplete chromogenic reaction time, flow rate of mixed solution during detection and salinity were analyzed for stable and fast analysis purposes. The study on the incomplete chromogenic reaction shows that the relative standard deviations (RSDs) of absorbance measurement results are all less than 1.64% within 10~60 s reaction time, indicating the chromogenic reaction time of 10~60 s has no effect on the fast detection method, therefore, 10 s is selected as the fast detection method chromogenic reaction time. The research of mixed solution's flow rate during detection shows that the flow rate has a large effect on the absorbance detection. Rapid flow rate influences the detection instability, and slow flow rate is not conducive to the fast detection. The stability and repeatability of absorbance measurement results are analyzed under the speeds of 10, 11.6, 13 and 15 $\mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$, which are relatively stable on absorbance measurement on the basis of experimental verification. The analysis results indicate that the linearity under the above four flow rates are all good, so the fastest speed 15 $\mu\text{L} \cdot \text{s}^{-1}$ is selected for the fast detection method. The absorbance changes of three different concentrations of nitrite (150, 250, 350 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) in the 0~35 salinity range are analyzed to verify the sensitivity of this fast detection method to salinity and the adaptation to freshwater and the wide range of seawater. The RSDs are 1.39%, 2.03% and 1.28% respectively, indicating that salinity has no effect on this method. The RSDs measured of parallel 80, 150, and 250 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ nitrite standard solutions for 11 times are 2.13%, 1.07% and 1.83% respectively, indicating that this fast detection method has a good precision. The detection limit of this method acquired by taking 10 parallel samples of blank samples is 37 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (about 0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). In order to verify the credibility, the standard curves of same batch nitrite standard solutions are made by using the fast detection method in this paper and the standard method in "Specifications for oceanographic survey". The R^2 of above two methods are both greater than 0.999, and the linear regression equation of the measurement data obtained by the two methods of same concentration sample is $y=1.0461x-0.0057$ with the $R^2=0.9996$, which shows that the results of the two methods are highly consistent, further verifying the feasibility and reliability of the fast detection method in this paper. The determination rate of this method is up to 50 samples $\cdot \text{hour}^{-1}$. Compared with the traditional manual detection

method and flow injection analysis method, the nitrite fast detection method in this paper shortens the time -consumed from a dozen minutes to a minute or so, reduces the sample and reagents consumption in the entire detection process. The fast detection method has a good repeatability, and the whole measurement process is fully automated, and the operation is simpler and more intelligent, which avoids the error caused by manual intervention and makes the nutrients online and in-situ detection system based on spectrophotometry more compact, fast and low-consumption, which is more suitable for in-situ and long time monitoring. The fast detection method in this paper is applicable to other seawater nutrients as long as it is slightly adjusted, having a wide range of applications and good application prospects.

Keywords Nitrite; Sequential injection analysis; Spectrophotometry; Fast detection; Incomplete chromogenic reaction

(Received Jan. 29, 2018; accepted May 16, 2018)

* Corresponding author

敬告读者——《光谱学与光谱分析》已全文上网

从 2008 年第 7 期开始在《光谱学与光谱分析》网站(www.gpxygpx.com)“在线期刊”栏内发布《光谱学与光谱分析》期刊全文,读者可方便地免费下载摘要和 PDF 全文,欢迎浏览、检索本刊当期的全部内容;并陆续刊出自 2004 年以后出版的各期摘要和 PDF 全文内容。2009 年起《光谱学与光谱分析》每期出版日期改为每月 1 日。

《光谱学与光谱分析》期刊社