

# 全自动水质分析仪快速定量检测地表水中硝酸盐氮和亚硝酸盐氮

郝 红<sup>1</sup>, 周怀东<sup>1</sup>, 高 博<sup>1\*</sup>, 刘欠欠<sup>2</sup>, 陆 琪<sup>1</sup>, 高继军<sup>1</sup>, 袁 浩<sup>1</sup>

1. 中国水利水电科学研究院水环境研究所, 北京 100038

2. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 北京 100007

**摘要** 利用新型的 Thermo Scientific Gallery 全自动水质分析仪, 检测过程中自动完成加样本、读空白、加试剂、反应显色、比色检测和数据处理等步骤。检测方法来源于美国环保署标准水质检测方法。该仪器具有样品和试剂耗量少、灵敏度高、重复性好等优点, 检测过程容易实现自动化、标准化和信息化, 适用于水质和环境检测领域大量样品的快速检测。

**关键词** 硝酸盐氮; 亚硝酸盐氮; 分光光度法; 全自动分立式分析技术; 地表水

中图分类号: O657.3 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2013)02-0434-04

## 引 言

Gallery 全自动水质分析仪(Thermo Fish Scientific)的工作原理实际上是传统的分光光度法。仪器自动化由软件程序控制, 试剂和样本被精确加入比色杯反应槽, 自动完成搅拌混匀、定时反应显色、读数和数据报告等步骤。它采用目前世界上最先进的第二代自动化湿法化学检测技术, 取消了模块的限制, 避免了流通池的交叉污染, 减少了人为误差, 检测精确度和重复性更好, 符合英国蓝皮书、美国 EPA 等国际认证标准<sup>[1]</sup>, 真正实现了无人看管的自动化检测。该技术在欧美等发达国家的环境检测领域已经被广泛应用<sup>[2]</sup>, 在我国目前还处于试验探索阶段。

本工作是基于美国 EPA 353.1 硫酸肼还原检测水质样本中硝酸盐的检测方法<sup>[3]</sup>, 建立了地表水中硝氮和亚硝氮的全自动检测方法<sup>[4]</sup>, 并与离子色谱法<sup>[5]</sup>进行了数据对比。基本原理是, 首先硫酸肼试剂将水质样本中的硝酸盐还原为亚硝酸盐, 随后所有的亚硝酸盐与磺胺重氮化作用, 进而与盐酸萘基乙二胺反应显色, 在 540nm 波长下分光光度法检测。如果不添加硫酸肼试剂直接检测, 测定结果为水样中原来的亚硝酸盐含量, 将两个检测的结果相减, 即可计算出水样中真正的硝酸盐氮的含量。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

Gallery 全自动水质分析仪(Thermo Fish Scientific); FIA-6000+全自动流动注射分析仪(北京吉天仪器有限公司); Evolution 300 UV-Vis 分光光度计(Thermo Fish Scientific); 0.45 μm 滤膜及注射器过滤装置; 容量瓶、移液管等玻璃容器; 精密天平等。

### 1.2 试剂

#### 1.2.1 碱性溶液

准确称取 0.8 g NaOH 于 100 mL 容量瓶中, 用去离子水定容。

#### 1.2.2 还原试剂的配制

硫酸铜储存溶液: 准确称取 0.78 g CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 于 200 mL 容量瓶中, 用去离子水定容。硫酸锌储存溶液: 准确称取 9.0 g ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 于 200 mL 容量瓶中, 用去离子水定容。还原试剂: 准确称取 0.325 g 硫酸肼于 400 mL 去离子水溶解, 加 0.75 mL 硫酸铜储存溶液和 5.0 mL 硫酸锌储存溶液, 转入 500 mL 容量瓶中, 用去离子水定容, 该溶液可以稳定 1 个月。

#### 1.2.3 显色试剂

将 50 mL 浓磷酸(H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)用 500 mL 去离子水稀释后, 先加入 5.0 g 对氨基苯磺酰胺(磺胺), 完全溶解后再加入

收稿日期: 2012-06-13, 修订日期: 2012-10-11

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项项目(2009ZX07104-001)和水利部水利科技推广与标准化项目(1261230111031, 1261230111030)资助

作者简介: 郝 红, 1962 年生, 中国水利水电科学研究院水环境研究所高级工程师 e-mail: haoh@iwhr.com

\* 通讯联系人 e-mail: gaobo@iwhr.com

0.25 g 盐酸萘乙二胺, 转移到 1 000 mL 容量瓶定容。该试剂需要棕色瓶密封保存, 可以稳定 1 个月。

### 1.3 标准溶液

硝酸盐氮母液( $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ): 准确称取 3.609 g 优级硝酸钾( $\text{KNO}_3$ , 100~105 °C 烘干 2 h), 于 1 000 mL 容量瓶中, 用去离子水定容。该溶液在塑料容器中 2~8 °C 保存, 可稳定 1 个月。使用时, 吸取 10 mL 亚硝酸盐氮母液稀释至 100 mL, 得到浓度为  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的硝酸盐氮工作溶液。

亚硝酸盐氮母液( $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ): 准确称取已干燥好的优级纯亚硝酸钠 1.231 g 于 1 000 mL 容量瓶中, 用去离子水定容。该溶液在塑料容器中 2~8 °C 保存, 可稳定至少 6 个月。使用时, 吸取 4 mL 亚硝酸盐氮母液稀释至 1 000 mL, 得到浓度为  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的亚硝酸盐氮工作溶液。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 设定检测流程

开启仪器主机和控制电脑, 进入专用操作软件, 仪器显示已连接时运行“启动”程序, 仪器自检并运行水空白实验, 反应盘温度及各部件稳定后即可进入实验。首先, 在仪器软件的方法定义页面分别编辑硝酸盐氮和亚硝酸盐氮的检测流程(采用原厂试剂可直接使用仪器自带方法)。

设定亚硝酸盐氮自动化测试流程: 移取水样 120  $\mu\text{L}$ , 读取空白, 移取显色试剂 20  $\mu\text{L}$ , 反应时间 360 s, 检测波长 540 nm。

设定硝酸盐氮自动化测试流程: 移取水样 120  $\mu\text{L}$ , 移取碱性溶液 50  $\mu\text{L}$ , 读取空白, 移取还原试剂 50  $\mu\text{L}$ , 读取样品空白, 反应时间 420 s, 移取显色试剂 30  $\mu\text{L}$ , 反应时间 300 s, 检测波长 540 nm。

#### 1.4.2 设定自动稀释校准

设置硝酸盐氮最高浓度校准品为  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 定义自

动稀释校准, 稀释倍数为 2, 3, 5, 10, 20, 可自动获得浓度为 25.0, 16.7, 10.0, 5.0, 2.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  校准点。

设置亚硝酸盐氮最高浓度校准品为  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 定义自动稀释校准, 稀释倍数为 2, 5, 10, 20, 50, 可自动获得浓度为 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  校准点。

#### 1.4.3 运行样品测定

将待测样品倒入样品管中, 置于带有条码架号的样品架上, 按照仪器的使用规程在仪器软件上设置每个样本的名称和待检测指标名称及次数, 检测完成后自动显示结果报告, 可设定手动或自动接受。

## 2 结果与讨论

### 2.1 校准曲线

将亚硝酸盐氮和硝酸盐氮的工作溶液、空白点(可用蒸馏水代替)放置到样品架上, 在软件中指定架号和位置, 分别运行业亚硝酸盐氮和硝酸盐氮检测方法的校准程序, 结果列于表 1。

Table 1 Equation and correlation coefficient

| 测定参数  | 相关方程               | 相关系数   |
|-------|--------------------|--------|
| 亚硝酸盐氮 | $y=2.2427x+0.0165$ | 0.9998 |
| 硝酸盐氮  | $y=0.0519x+0.0140$ | 0.9999 |

### 2.2 精密度

选择两个样本, 按本方法进行 7 次连续的重复测定, 记录检测结果并计算 RSD%。如表 2 所示, 该方法测定过程中随机误差较小, 能够满足实验室样本检测结果的稳定性和可靠性要求。

Table 2 Precision test for the nitrite nitrogen and nitrate nitrogen determination method( $n=7$ )

| 测定   | 参数   | 样品 | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 平均值   | RSD/% |
|------|------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 亚硝酸盐 | S1   |    | 0.130 | 0.129 | 0.129 | 0.130 | 0.129 | 0.130 | 0.130 | 0.130 | 0.41  |
|      | QC-2 |    | 0.403 | 0.403 | 0.402 | 0.402 | 0.401 | 0.402 | 0.401 | 0.402 | 0.20  |
| 硝酸盐  | S1   |    | 0.153 | 0.155 | 0.154 | 0.155 | 0.154 | 0.156 | 0.156 | 0.155 | 0.72  |
|      | QC-2 |    | 20.77 | 20.89 | 20.81 | 20.95 | 21.27 | 21.17 | 20.81 | 20.95 | 0.93  |

### 2.3 回收率

取实验室常规检测的 5 个地表水样本, 每个样本中都按照 1:3 加入  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的亚硝酸盐氮标样, 相当于每个样本中加标量为  $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 每个样本中都按照 1:1 加入  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的硝酸盐氮标样, 相当于每个样本中加标量为  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 仪器测定的数据计算回收率见表 3。结果表明, 亚硝酸盐氮检测方法的加标回收率在 96.0%~104.8% 之间, 硝酸盐氮检测方法的加标回收率在 96.6%~101.7% 之间, 说明该检测方法准确性良好。

### 2.4 最小检出限

取用水空白加微量硝酸盐标准溶液作为验证方法检出限的样本, 相同条件下上机重复检测 11 次。根据 EPA SW-846 中规定的方法检出限计算公式:  $\text{MDL} = 3.143\delta$ ( $\delta$  为对同一

Table 3 Recovery test for the nitrite nitrogen and nitrate nitrogen determination method

| 测定参数 | 样本编号 | 原始浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ | 加入浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ | 测得浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ | 平均回收率/% |
|------|------|---|---|---|---------|
| 亚硝酸盐 | S1   | 0.125                                   | 0.25                                    | 0.379                                   | 101.6   |
|      | S2   | 0.130                                   | 0.25                                    | 0.384                                   | 101.6   |
|      | S3   | 0.078                                   | 0.25                                    | 0.334                                   | 102.4   |
|      | S4   | 0.214                                   | 0.25                                    | 0.476                                   | 104.8   |
|      | S5   | 0.115                                   | 0.25                                    | 0.355                                   | 96.0    |
| 硝酸盐  | S6   | 12.08                                   | 5                                       | 16.92                                   | 96.6    |
|      | S7   | 13.06                                   | 5                                       | 18.09                                   | 100.7   |
|      | S8   | 4.168                                   | 5                                       | 9.033                                   | 97.3    |
|      | S9   | 5.045                                   | 5                                       | 10.12                                   | 101.4   |
|      | S10  | 5.013                                   | 5                                       | 10.10                                   | 101.7   |

**Table 4 Minimum detection limit of the nitrite and nitrate determination method( $n=11$ )**

| 样品                 | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11       | SD      | MDL/(mg·L <sup>-1</sup> ) |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|---------|---------------------------|
| NO <sub>2</sub> -N | 0.006 | 0.006 | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.004 | 0.004 | 0.000 63 | 0.002 0 |                           |
| NO <sub>3</sub> -N | 0.190 | 0.143 | 0.118 | 0.126 | 0.110 | 0.106 | 0.118 | 0.100 | 0.099 | 0.111 | 0.099    | 0.026 7 | 0.083 9                   |

**Table 5 Results contrast between Gallery and FIA in nitrite nitrogen test**

| 样品/质控品名称              | Gallery 检测结果/(μg·L <sup>-1</sup> ) | 流动注射分析仪检测结果/(μg·L <sup>-1</sup> ) |
|-----------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Ntrite QC 42.27±2.115 | 43.10                              | 42.83                             |
| 样品 1                  | 5.809                              | 6.292                             |
| 样品 2                  | 13.07                              | 15.28                             |
| 样品 3                  | 53.52                              | 55.67                             |
| 样品 4                  | 23.35                              | 24.37                             |
| 样品 5                  | 2.152                              | 2.261                             |
| 样品 6                  | 5.673                              | 6.427                             |
| 样品 7                  | 8.850                              | 9.837                             |
| 样品 8                  | 5.295                              | 5.218                             |
| 样品 9                  | 4.508                              | 4.244                             |
| 样品 10                 | 8.364                              | 8.912                             |
| 样品 11                 | 3.016                              | 2.850                             |
| 样品 12                 | 10.57                              | 10.57                             |
| Ntrite QC 42.27±2.12  | 42.66                              | 42.71                             |
| Ntrite QC 42.27±2.12  | 42.73                              | 42.78                             |

**Table 6 Results contrast between Gallery and ion chromatography (IC) in nitrate test**

| 样品/质控品名称                           | Gallery 检测结果/(mg·L <sup>-1</sup> ) | IC 检测结果/(mg·L <sup>-1</sup> ) |
|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| Nitrate QC 5.00 mg·L <sup>-1</sup> | 4.88                               | 4.87                          |
| 样品 1                               | 24.04                              | 23.3                          |
| 样品 2                               | 9.467                              | 9.072                         |
| 样品 3                               | 8.546                              | 8.210                         |
| 样品 4                               | 7.269                              | 7.230                         |
| 样品 5                               | 17.66                              | 17.70                         |
| 样品 6                               | 12.62                              | 12.42                         |
| 样品 7                               | 22.05                              | 22.31                         |
| 样品 8                               | 11.38                              | 11.61                         |
| Nitrate QC 20 mg·L <sup>-1</sup>   | 20.79                              | 20.22                         |

## References

- [1] U.S. EPA Office of Ground Water and Drinking Water/Technical Support Center. Methods for the Determination of Organic and Inorganic Compounds in Drinking Water, Volume 1-300. 1, Rev 1. 0 Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography, (NSCEP PB 815-R-00-014), 1997.
- [2] American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition-4500-NO<sub>3</sub>-H Automated Hydrazine, Washington, DC, 1998.
- [3] U. S. EPA National Exposure Research Laboratory. Methods for Chemical Analysis of Waters and Wastes-Nitrite 353. 1, Nitrogen, Nitrate-Nitrite (Colorimetric, Automated Hydrazine Reduction, EPA-600/4-79/020(NTIS PB 84-128677), Issued 1971; Reissued with Revision 1978.
- [4] U. S. EPA National Exposure Research Laboratory. Methods for Chemical Analysis of Waters and Wastes -Nitrate 353. 2, Rev 2. 0 Determination of Nitrate-Nitrite Nitrogen by Automated Colorimetry, EPA-600/R93/100(NTIS PB 84-120821), 1993.
- [5] U. S. EPA National Exposure Research Laboratory. Methods for Chemical Analysis of Waters and Wastes -Nitrate 300. 0, Rev 2. 1 Determination of Inorganic Anions by Ion Chromatography, EPA-600/R93/100(NTIS PB 94-120810), 1993.

样本重复测定至少 7 次的 SD) 得到亚硝酸盐氮和硝酸盐氮检测方法的检出限分别为 0.001 988 和 0.083 936 mg·L<sup>-1</sup>, 具体结果见表 4。

### 2.5 亚硝酸盐氮数据与流动注射分析仪的批量样本检测结果对比

分别使用 Gallery 分析仪和流动注射分析仪对一批地表水样本进行检测。Gallery 分析仪采用的是 Thermo 试剂盒中用于亚硝酸盐检测的 TON R3 试剂, 流动注射采用的是仪器推荐的试剂配制方法, 部分数据结果对比见表 5 和表 6。结果表明, 两种方法的检测数据具有明显相关性, 且适于检测亚硝酸盐含量极低的地表水样本。

## 3 结 论

实验表明, Gallery 全自动水质分析仪对地表水样品中亚硝酸盐氮和硝酸盐氮含量的检测方法准确度好、灵敏度高, 结果能够满足地表水检测的要求, 该方法对<100 μg·L<sup>-1</sup> 的低浓度亚硝酸氮检测结果准确、快速。与流动注射分析仪的检测结果对比发现, 两者检测结果差异很小, 均能满足地表水和江河流域的水质控制和污染防治工作。更重要的是, Gallery 分析仪具有流动注射无法比拟的优势: 操作方便、维护简单, 无需冲洗, 可做到检测过程无人值守; 自动化的程序控制, 更适于大规模样本的快速检测; 无需每天校准, 无需开机预热和做基线; 样本用量少, 特别适用于取样量极少的岩石缝隙水和远距离水质取样保存; 试剂用量少, 可以手工配置或使用厂家原装试剂, 配制一次试剂即可使用很长时间; 耗水量少, 废水废液少, 大大减少了传统操作过程中各种样品容器的冲洗, 降低了劳动强度; 该技术是化学分析领域的技术创新, 对水环境实验室日常工作能力的提升具有重要意义。

# Determination of Nitrate and Nitrite in Water Samples Using Gallery Automatic Discrete Analyzer

HAO Hong<sup>1</sup>, ZHOU Huai-dong<sup>1</sup>, GAO Bo<sup>1\*</sup>, LIU Qian-qian<sup>2</sup>, LU Jin<sup>1</sup>, GAO Ji-jun<sup>1</sup>, YUAN Hao<sup>1</sup>

1. China Institute of Water Resources and Hydropower Research, Department of Water Environment, Beijing 100038, China

2. Thermo Fisher Scientific (China) Inc., Beijing 100007, China

**Abstract** Thermo Scientific Gallery Automatic Discrete Analyzer is special for water analyzing, and can automatically run steps including sample and reagents dispensing, water blank, mixing and incubation, Colorimetric reading and data processing. This method refers to U. S. Environmental Protection Agency. The instrument has advantage in low sample and reagents consumption, sensitivity and repeatability; test process can be automatic, standardized and informationized, and is applicable to multitudinous sample testing in water qualities and environmental monitoring.

**Keywords** Nitrite; Nitrate; Photometric; Automatic discrete technology; Surface water

(Received Jun. 13, 2012; accepted Oct. 11, 2012)

\* Corresponding author