

淡水湖泊水体中溶解有机氮测定方法的对比*

黎文^{1,2}, 白英臣^{1,2}, 王立英^{1,2}, 王静^{1,2}, 傅平青^{1,2}, 廖海清^{1,2}, 吴丰昌^{1**}, 刘丛强¹

(1:中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002)

(2:中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:溶解有机氮(Dissolved Organic Nitrogen, DON)是天然水体中氮的重要组成部分, 目前研究相对很少. 本文对淡水中测定DON的两种常见方法即过硫酸钾湿氧化法(Persulfate Oxidation, PO)和高温催化氧化法(High Temperature Catalytic Oxidation, HTCO)进行了对比研究. 结果表明:两种方法各有特点, 湿氧化法相对较为理想. 湿氧化法对不同氮标准化合物的回收率较高, 平均为 $96.0 \pm 3.0\%$ 以上(杂环氮化合物除外); 对湖泊淡水样品, 用PO法测定溶解有机氮的相对标准偏差范围为 $6.2\% - 12.5\%$. 高温催化氧化法对不同氮标准化合物的回收率较低, 平均为 $68.4 \pm 13.6\%$, 需作进一步条件优化.

关键词:溶解有机物; 溶解有机氮; 湿氧化; 高温催化氧化; 淡水湖泊

Determination of Dissolved Organic Nitrogen in fresh lake water: method comparison

LI Wen^{1,2}, BAI Yingcheng^{1,2}, WANG Liying^{1,2}, WANG Jing^{1,2}, FU Pingqing^{1,2}, LIAO Haiqing^{1,2}, WU Fengchang^{1**} & LIU Congqiang¹

(1:Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang, 550002, P. R. China)

(2:Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100039, P. R. China)

Abstract: Dissolved organic nitrogen is an important component of dissolved organic matter in natural aquatic system. But little is known about its characteristics. This study compared two common methods for DON analysis: persulfate oxidation(PO) and high temperature catalytic oxidation(HTCO). The results showed that both methods had their own merits, but better results were obtained using PO method. PO method resulted in higher recovery for various nitrogen-containing standard compounds($96.0 \pm 3.0\%$, excluding heterocyclic nitrogen compounds), and relative standard deviation ranged from 6.2% to 12.5% . The HTCO method yielded relatively low recovery($68.4 \pm 13.6\%$), and needed further improvement. This study would be helpful for the study of nitrogen biogeochemical cycling in aquatic environment.

Keywords: Dissolved organic matter; dissolved organic nitrogen; wet oxidation; high temperature catalytic oxidation; freshwater lake

目前关于天然水体中氮含量和氮生物地球化学循环的研究主要集中在无机氮部分, 而对DON部分研究相对较少. 近二十年来, 学者们已经认识到一些水体中DON是溶解性总氮(Total Dissolved Nitrogen, TDN)的主要组成部分, 平均百分比为 $60\% - 69\%$ ^[1]. 最近有学者报道, 有 $12\% - 72\%$ 的DON能迅速被生物利用^[2-3]. 当DON和 NH_4^+ 分别作为生态群落的氮源时, 浮游植物群落的组成将有所不同^[4]. 因此, 淡水中DON研究对揭示水体氮循环、水生生态群落组成等有重要作用.

目前, 还没有测定水体中DON含量的直接方法; DON值一般是由TDN值差减溶解无机氮值(dissolved

* 国家重点基础发展规划研究项目(2002CB412300)、国家自然科学基金杰出青年基金项目(40525011)和青年基金项目(40403011)联合资助.

2005-03-08 收稿; 2005-04-25 收修改稿. 黎文, 女, 1979年生, 博士研究生.

** 联系人; E-mail: wufengchang@vip.skley.cn.

inorganic nitrogen, DIN) 获得^[5-7]. TDN 的测定方法主要分为两类, 一类为湿化学氧化法(包括 PO 和紫外氧化); 另一类为高温氧化法. Sharp 等^[8]报道了 24 个实验室测定五个相同样品中 DON 含量的结果, 发现两类方法测定的结果无显著差异; 但在湿化学氧化法中, 由镉柱还原法两次测定 NO_3^- 所带来的误差对 DON 结果的准确性产生了相当大的影响. Bronk 等^[7]比较了三种(PO、紫外氧化和高温氧化)测定 TDN 的方法, 发现 PO 法与高温氧化法测定的结果基本吻合, 但都存在不能充分氧化某种氮化合物的缺陷. 将上述研究海水的这些方法应用于淡水中 DON 的测定, 结果可能会有所不同. 目前国内仅有关于海湾和河流 DON 浓度与分布的报道^[9,10], 未见 DON 测定方法的详细对比研究.

因此本文对淡水中 TDN 的两种测定方法, 即 PO 法和 HTOC 法进行了对比; 在此基础上, 通过对淡水湖泊水体的 TDN 含量和不同形态溶解无机氮含量的测定, 试图为淡水湖泊中 DON 含量测定方法的选择提供依据.

1 实验部分

实验中所有用到的玻璃器皿均在 10% 盐酸中浸泡 12 h, 用去离子水(NANOPURE)清洗三遍, 在 100℃ 烘干 2 h. 用来配备当日标准的玻璃器皿在使用前先用 10% 盐酸清洗, 然后再用去离子水清洗三遍.

1.1 淡水样品的采集及处理

采样在 2003 年 5 月份进行, 对贵州红枫湖和百花湖用 Niskin 采样器分层采水样, 当天回实验室后立即用 GF/F 玻璃纤维滤膜过滤(玻璃纤维滤膜预先于 450℃ 烧 4-6 h), 滤液装于聚乙烯瓶中, 在 4℃ 条件下保存. 水样分成 2 份供分析之用, 其中一份用高效液相色谱法测定 NO_3^- 含量和用比色法测定 NH_4^+ 和 NO_2^- 含量; 另一份用于 TDN 测定.

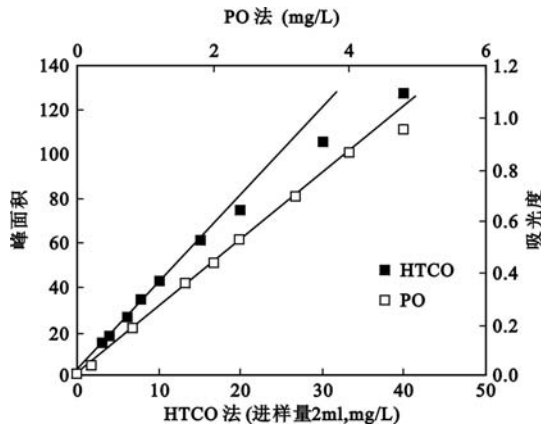


图 1 尿素为标准的 PO 法和 HTOC 法的线性范围

Fig. 1 The linear range measured with urea standards for PO and HTOC methods

1.2 测定方法

1.2.1 TDN 的测定 ①过硫酸钾消解紫外分光光度法(PO), 主要测定步骤按国家标准 GB11894-89. 方法原理为: 在 60℃ 以上, 过硫酸钾可分解产生硫酸氢钾和原子态氧. 分解出的原子态氧在 120-124℃ 条件下, 可使水样中含氮化合物氧化分解并转化为硝酸盐. 用紫外分光光度法于波长 220 nm 和 275 nm 处, 分别测定吸光度. 用校正的吸光度 $A = A_{220} - 2A_{275}$ 绘制标准曲线并计算样品中 TDN 的浓度. 所用分光光度计为双光束分光光度计(岛津 UV-3000). 测定样品时同批加入两个 2 mg/L 的 NH_4Cl 以测定回收率. ②高温催化氧化法(HTOC); 所用仪器型号为 ELEMENTAR, high TOC II + N. 所用到的化学试剂全部由 ELEMENTAR 公司提供. 方法原理为: 自动进样器吸入样品(0.5-2.0 ml), 在动态炉(等待温度 680℃, 进样后温度 950℃)内汽化(盐和不能燃烧的物质在此处被截留), 而后进入高温燃烧炉(1050℃)反应. 含氮化合物在

高温催化氧化作用下转化为 NO 气体,而后由非弥散性红外检测器检测. 仪器的参数设置如表 1. 测样时每 10 次插入对应浓度的硝酸钾以测定回收率.

表 1 ELEMENTAR 仪器的参数设定
Tab. 1 The ELEMENTR instrumental parameters for the TDN analysis

参数	载气种类	载气流速	进样体积	催化剂	检测器	结果记录
设定值	高纯氧(>99.99%)	199 ml/min	0.5 – 2 ml	CeO ₂	NDIR	峰面积

1.2.2 不同形态氮含量的测定 氨氮含量的测定方法为靛酚兰法^[11],检测限为 0.007mg/L;硝酸盐氮含量的测定方法为色谱法^①,检测限为 0.1 mg/L,亚硝酸盐氮含量的测定方法为重氮偶合分光光度法^②,检测限为 0.003 mg/L.

1.3 方法参数的测定

首先以尿素为标准配制浓度系列,测定 PO 法和 HTCO 法的浓度线性范围(PO 法的浓度系列为 0.0, 0.2,0.8,1.6,2.0,2.4,3.2,4.0,4.8mg/L;HTCO 法的浓度系列为 3.0,4.0,6.0,8.0,10.0,15.0,20.0,30.0, 40.0 mg/L,见图 1),并计算空白值(空白值 = 标线在 y 轴上的截距/标线斜率)和检测限(空白值的标准偏差的三倍)^[7]. 尿素标准共测定了三天,每天测定 5 次以上,由此计算 PO 法和 HTCO 法的日内和日间变动. 其次,配制一系列浓度的不同形态氮标准化合物 (包括 KNO₃、NH₄Cl、尿素、谷氨酸、苯丙氨酸、4 – 氨基安替比林和 EDTA,用去离子水配制),对比 PO 法和 HTCO 法两种方法对不同氮化合物的回收率,及同种氮化合物不同浓度对回收率的影响. 最后以不同形态氮所占比例不同的五个湖泊淡水样品为例,计算 DON 测定方法的精密度,以相对标准偏差(RSD)表示.

2 结果与讨论

2.1 TDN 两种测定方法的比较

2.1.1 线性范围 以尿素为标准配制浓度系列,按照所测定的对应的吸光度(PO 法)或峰面积(HTCO 法)绘制的标准曲线如图 1. HTCO 法在进样体积为 2 ml(2 ml 是最大进样量,这时的峰面积最大,测定浓度小于 15 mg/L 时选用)时,标准曲线线性范围在 15 mg/L 以下,在此范围里,尿素浓度和峰面积极显著相关($R^2 = 0.9993, n = 6$). PO 法标准曲线的线性范围比 HTCO 法的小,在 4 mg/L 以下. 在此范围里,尿素浓度和吸光度极显著相关($R^2 = 0.9998, n = 8$).

2.1.2 精密度 对不同浓度的尿素,测定了两种方法的日内和日间标准偏差. 在 4 mg/L 时,HTCO 法的日内和日间标准偏差都比 PO 法大(表 2).

表 2 由尿素测得的 PO 法和 HTCO 法的日内和日间精密度*

Tab. 2 The measurement precision for PO and HTCO methods by urea standards within day and between day

方法	2 mg/ L		4 mg /L		8 mg /L		40 mg/ L	
	日 内	日 间	日 内	日 间	日 内	日 间	日 内	日 间
PO	0.02	0.04	0.006	0.01				
HTCO			0.20	0.32	0.38	0.59	1.13	1.08

* 以标准偏差(SD)表示,测定次数 $n \geq 5$.

① 参照原惠普公司阴离子色谱手册,所用色谱仪型号为 HP1100.
② 按照国家标准 GB7493 – 87.

表 3 回归曲线获得的 PO 法的空白和检测限

Tab. 3 Blanks and limit of detection(LOD) of PO method as calculated by the regression analysis of NO₃⁻ standards

次数	标线 y 轴截距	标线斜率	空白值(mg /L)
1	0.0141	0.2065	0.0683
2	0.0111	0.2122	0.0523
3	0.0064	0.2155	0.0297
4	0.0085	0.2147	0.0396
5	0.0075	0.2162	0.0347
6	0.0122	0.2138	0.0571
标准偏差		0.015	
检测限		0.045	

2.1.3 空白值与方法检测限 以硝酸钾为标准配制浓度系列,对于 PO 法一共测定了六次标准曲线,计算的空白值如表 3. 经计算,PO 法空白的平均值为 0.05 mg/L,检测限为 0.045 mg/L (表 3). 因此方法的线性范围为 0.045 – 4 mg/L. HTCO 法由于所用检测器的灵敏度低,在以超纯水为空白进行测定时,检测不到 峰面积,在样品的浓度小于 2 mg/L 时 RSD 接近 10%. 据仪器说明书,TDN 的检测下限为 2 mg/L^①.

2.1.4 氮标准化合物的回收率 天然水体中的溶解有机氮成分结构复杂,因此检验测定方法对它们的回收率很重要. 目前普遍采取的方法是选择一系列具代表性的氮化合物来验证. 由此选取具有代表性的氮标准化合物配制不同浓度来测定两种方法对它们的回收率(表 4).

表 4 PO 法和 HTCO 法中各氮化合物相对于 KNO₃ 的回收率

Tab. 4 Percent recoveries of nitrogen-containing compounds for PO and HTCO methods compared with KNO ₃							
化 合 物	浓 度 (mg/L)	回 收 率 (%)		化 合 物	浓 度 (mg/L)	回 收 率 (%)	
		PO	HTCO			PO	HTCO
尿 素	2	95.2		4 - 氨基安替比林	2	37.2	
	4	100	71.2		4	43.4	59.2
	8		82		8		64.2
	40		87.8		40		72.1
苯丙氨酸	2	91.8		谷氨酸	2	95.9	
	4	94.9	52.6		4	95.6	54.5
	8		53.4		8		58.1
	40		65		40		67.7
乙二胺四乙酸	2	91.2		氯化氨	2	100.1	
	4	96.7	54.9		4	98.5	89.1
	8		55.1		8		86.5
	40		66.7		40		91.5
全体平均值 ± SD						96.0 ± 3.0 ^a	68.4 ± 13.6

a: 未计入 4 – 氨基安替比林的回收率.

除四氨基安替比林外(37%—43%),PO 法对其他各氮标准化合物的回收率均高于 91% ,与相关文献的结果类似^[7]. 四氨基安替比林属杂环化合物,杂环上两个氮连接,氨基上一个氮,从四氨基安替比林的回收率为 37% – 43% 来看,杂环上的氮可能没有被过硫酸钾氧化. 因此 PO 法不适合测定杂环氮化合物占大比例的样品. McCarthy 等^[12]报道海洋中超滤得到的样品里氨基化合物占 DON 的绝大部分,若淡水湖泊水体中的 DON 也是氨基化合物占绝大部分,则 PO 法可用于淡水湖泊水体中的 DON 的测定. 浓度对 PO 法回收率的影响不大.

① ELEMENTAR, highTOC II + N 操作手册.

HTCO 法测得各氮标准化合物的回收率都比 PO 法测得的低(40 mg/L 浓度时的进样量为 0.5 ml,其他浓度进样量为 2 ml),但 4-氨基安替比林除外,可能是杂环上的氮在高温催化的条件下更容易氧化,说明 HTCO 法对 DON 中的杂环氮化合物较为灵敏. 进样体积为 0.5 ml(浓度为 40 mg/L)时各氮标准化合物的回收率比进样体积为 2 ml 时(浓度为 4 和 8 mg/L)普遍稍高(表 4),可见减少进样体积可提高回收率. Ammann 等^[13]报道氮化合物直接与热的催化剂接触会导致回收率下降 2-3 倍,在催化剂上加入石英毛使得氮化合物汽化后再与催化剂接触可以改变这种状况,本文实验中氮化合物在与催化剂接触前已被汽化,显然这不是引起有机氮化合物回收率低的原因. Bettler (1998)在实验中观察到氮的线性范围达到 200 mg/L,但与硝态氮相比,氨和尿素的回收率分别为 70% - 85% ,62% - 67%(10,20,50 mg/L)^[13]. 可见氮化合物的回收率偏低是 HTCO 法测定样品时容易出现的问题.

2.2 湖泊淡水样品 DON 浓度测定的精确性

DON 由 TDN 与无机氮的差减获得,因此 DON 数据的精确性尤为重要. 由于 HTCO 法所用仪器的检测限很高,湖泊中 TDN 含量在其检测限附近,因此不适用,并且前面 HTCO 法对氮标准化合物的回收率偏低,将会低估 TDN 的含量. 相比之下,用 PO 法测定湖泊 TDN 含量取得很好效果,因而采用 PO 法对贵州百花湖和红枫湖的不同形态氮比例不同的五个淡水样品进行了 TDN 测定(表 5). 其中 S1、S2、S3 分别表示百花湖同一剖面上 2 m、14 m、25 m 水深处的水样. S4 为红枫湖表层水,S5 为红枫湖沉积物孔隙水. 对于所有样品在测定不同形态无机氮含量后,根据 DON 的计算公式和偶然误差的传递性原理,计算了 DON 的标准偏差和相对标准偏差(表 5).

表 5 五个天然水样的不同形态氮含量及标准偏差(RSD)

Tab.5 Concentrations and RSD of different nitrogen species in five natural water samples

水样	NO ₂ ⁻ - N(mg/L)	NH ₄ ⁺ - N(mg/L)	NO ₃ ⁻ - N(mg/L)	TDN(mg/L)	DON(mg/L)
S1	0.0544 ±0.0011	0.188 ±0.004	1.05 ±0.00	1.94 ±0.04	0.65 ±0.04
S2	0.1301 ±0.0001	0.795 ±0.016	1.45 ±0.01	2.69 ±0.03	0.32 ±0.03
S3	0.2181 ±0.0011	0.406 ±0.006	0.46 ±0.00	1.32 ±0.02	0.24 ±0.03
S4	0.0950 ±0.0004	0.176 ±0.002	1.53 ±0.01	2.13 ±0.03	0.33 ±0.03
S5	0.0000 ±0.0000	9.021 ±0.023	0.34 ±0.00	10.68 ±0.10	1.32 ±0.11
RSD 平均值(%)				1.6 ±0.6	9.1 ±2.3

DON 含量 = TDN - NO₂⁻ - N - NH₄⁺ - N - NO₃⁻ - N;

标准偏差 SD_{DON} = (SD_{TDN}² + SD_{NH₄⁺}² + SD_{NO₃⁻}² + SD_{NO₂⁻}²)^{1/2} [14];

相对标准偏差(RSD)= 标准偏差 SD/DON 浓度.

DON 的相对标准偏差范围为 6.2% - 12.5% ,平均为 9.1%(约为 TDN 的相对标准偏差的六倍),与相关文献报导的相对标准偏差的范围基本一致(9.2 ±6.1)^[7]. 百花湖深度剖面上 DON 的浓度范围为 0.24 - 0.65 mg/L,是标准偏差的十倍以上,且湖泊水体 DON 浓度在垂向上的变化程度也大于标准偏差,表明该方法的测定结果能真实反映湖泊水体的 DON 含量及其垂向变化,可为 DON 的进一步研究提供其浓度及分布的信息.

3 结论

尽管 PO 法和 HTCO 法都不是一种测 DON 含量完美的方法,但仍是目前最好的方法. PO 法对一系列氮标准化合物都有很好的回收率(除杂环氮化合物外,回收率均在 91% 以上),且精密度高. HTCO 法则更适合于杂环氮化合物的测定,其更大的优点是自动测定,节省人力,可应用于在线监测.

考虑到本文中 HTCO 法所采用型号的仪器在氮化合物回收率上的缺陷以及检测限的限制,采用 PO 法来测定淡水湖泊水体中 DON 的浓度. PO 法测得的 TDN 值差减 DIN 值后得到的 DON 值的相对标准偏差在

6.2% – 12.5% 的范围内(平均 9.1%), 能真实反映湖泊水体的 DON 含量及其垂向变化. 可见 PO 法联合无机氮的比色测定法能够得到 DON 的准确值, 这一方法简便可靠, 精密度好; 尤其是样品量多, 而方法检测限又能满足要求时, 其优势更大, 是目前测定淡水湖泊水体中 DON 浓度的一种较理想的方法.

4 参考文献

- [1] Bronk D A. Dynamics of DON. In: Hansell D A, Carlson C A, ed. Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter. New York, USA: Academic Press, 2002:154.
- [2] Stepanauskas R, Leonardson L, Tranvik L J. Bioavailability of wetland-derived DON to freshwater and marine bacterioplankton. *Limnol & Oceanogr*, 1999, **44**: 1477 – 1485.
- [3] Stepanauskas R, Edling H, Tranvik L J. Differential dissolved organic nitrogen availability and bacterial aminopeptidase activity in limnic and marine waters. *Microb Ecol*, 1999, **38**: 264 – 272.
- [4] Seitzinger S P, Sanders R W. Atmospheric inputs of dissolved organic nitrogen stimulate estuarine bacteria phytoplankton. *Limnol & Oceanogr*, 1999, **44**(3): 721 – 730.
- [5] Badr E A, Achterberg E P, Tappin A D, *et al.* Determination of dissolved organic nitrogen in natural waters using high-temperature catalytic oxidation. *Trends in Analytical*, 2003, **22**(11): 819 – 827.
- [6] Cornell S E, Jickells T D. Water-soluble organic nitrogen in atmospheric aerosol: a comparison of UV and persulfate oxidation methods. *Atmospheric Environment*, 1999, **33**: 833 – 840.
- [7] Bronk D A, Lomas M W, Glibert P M, *et al.* Total dissolved nitrogen analysis: comparisons between the persulfate, UV and high temperature oxidation methods. *Marine Chemistry*, 2000, **69**: 163 – 178.
- [8] Sharp J H, Rinker K R, Savidge K B, *et al.* A preliminary methods comparison for measurement of dissolved organic nitrogen in seawater. *Marine Chemistry*, 2002, **78**: 171 – 184.
- [9] 赵卫红, 焦念志, 赵增霞. 烟台四十里湾养殖水域氮的存在形态研究. 海洋与湖沼, 2000, **31**(1): 53 – 59.
- [10] 沈志良, 刘 群, 张淑美. 长江总氮和有机氮的分布变化与迁移. 海洋与湖沼, 2003, **34**(6): 577 – 585.
- [11] Koroleff F. Determination of ammonia. In: Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K, ed. Methods of Seawater Analysis. 2nded. Weinheim; Deerfield Beach, Florida; Basel: Verlag Chemie, 1983:150 – 157.
- [12] McCarthy M, Pratum T, Hedges J, *et al.* Chemical composition of dissolved organic nitrogen in the ocean. *Nature*, 1997, **390**: 150 – 154.
- [13] Ammann A A, R ttimann T B, Bürgi F. Simultaneous determination of TOC and TNb in surface and wastewater by optimized high temperature catalytic combustion. *Water Res*, 2000, **34**(14): 3573 – 3579.
- [14] 武汉大学主编. 分析化学. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 1982:115.