

在线衍生高效液相色谱测定水中氨氮的方法开发

高饒萌

(中国科学院重庆绿色智能技术研究院, 重庆, 400714)

摘要: 氨氮作为水体污染的重要指标之一, 广泛存在于工业废水、农业径流和生活污水中。针对氨氮测定中存在的操作繁琐、使用有毒试剂、重现性低等问题, 研制了在线衍生高效液相色谱系统。采用赛默飞 U3000 高效液相色谱仪, 搭建国产在线衍生系统, 通过氯化铵标准溶液的配制和不同衍生液的使用, 优化了检测条件。考察了不同衍生液比例、流速及反应温度对检测效果的影响。结果表明, 氯化铵的标准曲线具有良好的线性关系 ($R^2=0.9995$), 检出限为 0.069 mg/L, 定量限为 0.207mg/L, 并进行了重复性检验, 结果显示实验重复性良好 (RSD 为 0.384%)。本研究为水中氨氮的高效检测提供了可靠的实验方法。

关键词: 高效液相色谱法; 在线衍生系统; 水; 氨氮

Study on Determination of Ammonia Nitrogen in Water by on-line derivatization-high performance liquid chromatography

Abstract: Ammonia nitrogen, as one of the important indicators of water pollution, is widely present in industrial wastewater, agricultural runoff, and domestic sewage. In response to the issues of cumbersome operation, use of toxic reagents, and low reproducibility in the determination of ammonia nitrogen, an online derivatization high-performance liquid chromatography system has been developed. A Thermo Fisher U3000 high performance liquid chromatograph (HPLC) combined with a domestic on-line derivatization system was used to optimize the detection conditions through the configuration of ammonium chloride standard solution and the use of different derivatization solutions. The effects of different derivatization ratios, flow rates and reaction temperatures on the detection effect were investigated. The results showed that the standard curve of ammonium chloride had a good linearity ($R^2=0.9995$) with the detection limit of 0.069 mg/L, the quantification limit of 0.207mg/L and the experiments were reproducible (RSD of 0.384%). This study provides a reliable experimental method for the efficient detection of ammonia nitrogen in water.

Keywords: high performance liquid chromatography; online derivatization system; water;

氨氮作为水体污染的重要指标之一，广泛存在于工业废水、农业径流和生活污水中，其浓度的变化对水质及生态环境产生深远影响^[1]。当前，氨氮的测定方法主要包括气相分子吸收光谱法、次溴酸盐氧化法、纳氏试剂分光光度法、水杨酸-次氯酸盐分光光度法和蒸馏滴定法等。气相分子吸收光谱法虽然具有较高的灵敏度和分离效率，但其操作过程复杂，对分析人员的技能要求较高，增加了工作负担^[2]。次溴酸盐氧化法在处理含有机物较多的水样时效果不佳，且操作步骤繁琐，难以满足快速检测的需求。纳氏试剂光度法由于含有氯化汞，对人体和环境存在潜在危害，限制了其在实际应用中的推广^[3]。蒸馏滴定法虽然适用于高浓度氨氮的测定，但在低浓度氨氮水样的分析中却容易产生较大偏差。水杨酸-次氯酸盐光度法虽然灵敏度高且稳定，但由于依赖人为显色，操作过程同样繁琐，降低了检测效率^[4]。鉴于上述方法的局限性，亟需一种新型的检测方法，能够结合现有技术的优点，克服其缺陷。基于此，本文提出了一种在线衍生-高效液相色谱法，旨在将水杨酸-次氯酸盐光度法的显色反应与高效液相色谱的自动化检测相结合。

1 系统总体设计

该研究将水杨酸-次氯酸盐光度法灵敏，检出限低和高效液相色谱自动化程度高、速度快等特点有机结合，设计了一套在线衍生系统。通过高效液相色谱进样器将样品引入在衍生系统中，样品中氨与次氯酸盐反应生成氯胺，氯胺与水杨酸反应形成一个中间产物 5-氨基水杨酸，并转变为醌亚胺，最后是醌亚胺与水杨酸缩合成靛酚蓝，从而被高效液相色谱检测器检测。其设计示意图如图 1 所示，实物图如图 2 所示。

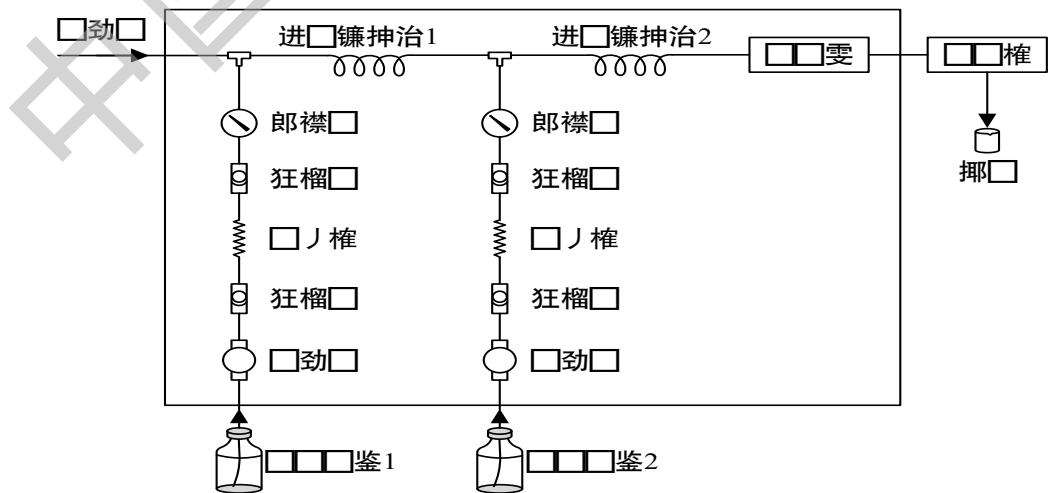
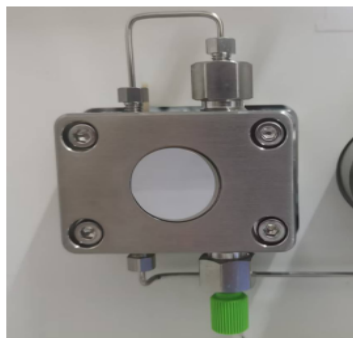


图 1 在线衍生系统设计图



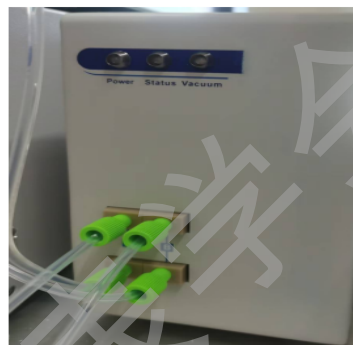
定制泵头及阻尼器



双单向阀



加热反应室



脱气机

图2 在线衍生系统实物图

2 实验内容

2.1 实验仪器

赛默飞 U3000 高效液相色谱，美国赛默飞公司；在线衍生系统（定制），大连依利特分析仪器有限公司。

2.2 主要试剂

氯化铵、水杨酸、氢氧化钠、酒石酸钾钠、次氯酸钠、亚硝基五氰络铁（III）酸钠，均购自 aladdin 公司。

2.3 实验方法

2.3.1 标准溶液配置

①氯化铵标准使用液（100mg/L）：氯化铵在 105℃干燥 2h 后，称取 3.819g 溶于水，移至 1000mL 容量瓶中，稀释至刻度。取此溶液 10mL 至 100mL 容量瓶，加水至刻度，摇匀即得。②氢氧化钠（80g/L）：称取 40g 氢氧化钠，定容于 500mL 容量瓶。③显色液：称取 50g 水杨酸，加入 100mL 水，再加入 160mL 氢氧化钠溶液，完成溶解后，加入 50g 酒石酸钾钠，定容于 1000mL 容量瓶。采用棕色瓶储存，可保存一个月。④酒石酸钾钠溶液：称取 50g 酒石酸钾钠于 100mL 容量瓶中，定容即得。⑤亚硝基五氰络铁（III）酸钠溶液：

称取 0.18g 溶于 10mL 水中。⑥衍生液 A: 取 20mL 酒石酸钾钠, 加入 100mL 显色液和 10mL 亚硝基五氰络铁(III)酸钠溶液即得。⑦衍生液 B: 次氯酸钠 16mL+17mL 氢氧化钠(80g/L), 定容至 100mL 即得。

2.3.2 样品测试

采用高效液相色谱进样, 在衍生系统上分别泵入衍生液 A 与 B, 水中的铵离子与水杨酸和次氯酸离子反应生成蓝色化合物, 用 697nm 波长进行检测即得。

2.3.3 单因素检验

本文单因素考察了不同衍生液比例 (1: 1.5、1: 1、1.5: 1、2: 1)、流速 (0.12mL: 0.12mL、0.08mL: 0.08mL、0.05mL: 0.05mL) 和反应温度对检测效果的影响。

3 结果与分析

3.1 测试条件优化

3.1.1 温度的影响

以氨氮 10mg/L 进行考察, 进样量为 10μL, 在 40℃时, 峰面积为 31.477 mAU*min。在 50℃时, 峰面积降至 28.879 mAU*min, 减少了约 8.1%。在 60℃时, 峰面积进一步降至 11.2193 mAU*min, 减少幅度更大, 约为 61.1% (相较于 50℃)。随着反应温度从 40℃升高至 60℃, 氨氮的峰面积显著降低, 表明响应度随温度升高而递减。在较高温度下, 导致反应不利或分解, 从而降低了检测的灵敏度。

表 1 温度与峰面积的关系

反应温度	峰面积 (mAU*min)
40℃	31.477
50℃	28.879
60℃	11.2193

3.1.2 衍生试剂 (A: B) 比例选择

在衍生试剂 A: B 比例为 1: 1.5 时, 峰面积最高, 为 52.235 mAU*min, 表明在这一比例下反应最为敏感, 检测信号最强。在比例为 1.5: 1 时, 峰面积降至 41.9592 mAU*min, 显示出较低的检测灵敏度。在比例为 1: 1 时, 峰面积为 46.8744 mAU*min, 相比于 1: 1.5 的峰面积有所下降。在比例为 2: 1 时, 峰面积为 48.0257 mAU*min, 高于 1.5: 1 和 1: 1 的峰面积, 但低于 1: 1.5。尽管 1: 1.5 的峰面积最高, 但基线波动较大, 会影响测量的准确性和重复性。其他比例 (如 1: 1) 的峰面积虽然稍低, 但具有更好的基线稳定性。因此,

虽然在灵敏度上表现优异，但在实际应用中并不理想。考虑到基线的稳定性和峰面积的合理性，最终选择 1：1 的比例，以确保检测结果的准确性。

表 2 衍生试剂比例与峰面积的关系

衍生试剂比例（A/B）	峰面积（mAU*min）
1：1.5	52.235
1.5：1	41.9592
1：1	46.8744
2：1	48.0257

3.1.3 衍生试剂（A：B）流速选择

在流速为 0.1：0.1 mL/min 时，峰面积为 39.0565 mAU*min，这是所有流速中相应最低的。在流速为 0.08：0.08 mL/min 时，峰面积上升至 42.7282 mAU*min，显示出流速的降低有助于提高峰面积。在流速为 0.05：0.05 mL/min 时，峰面积进一步提高至 46.1506 mAU*min，这是所有流速中最高的。从数据中看出，随着流速的降低，峰面积逐渐增加。这表明较低的流速有利于提高反应的灵敏度和检测信号。在所有测试的流速中，0.05：0.05 mL/min 的峰面积最高，达到 46.1506 mAU*min，表明在这一流速下反应最为敏感，检测信号最强。因此，选择较低的流速有助于获得更好的检测结果。

表 3 衍生试剂流速与峰面积的关系

衍生试剂流速（A：B mL/min）	峰面积（mAU*min）
0.1：0.1	39.0565
0.08：0.08	42.7282
0.05：0.05	46.1506

3.2 标准曲线的测定

分别移取氯化铵标准使用液（100mg/L）于 100mL 容量瓶中，配置浓度为 0.0mg/L、0.2mg/L、0.5mg/L、1mg/L、2mg/L 溶液。设置进样量 20μL，以样品浓度（mg/L）为横坐标，色谱峰面积（mAU*min）为纵坐标，绘制标准曲线。标准曲线方程为 $Y=34.476X-0.2277$ ，相关系数 R^2 为 0.9995，表明质量浓度与峰面积线性关系良好。检出限为 0.069mg/L，定量限为 0.207 mg/L。

表 4 样品浓度与峰面积的关系

样品浓度（mg/L）	峰面积（mAU*min）
0	0.464
0.2	5.754
0.5	17.297
1	34.08
2	68.829

3.3 重复性检验

设置进样量为 20μL，在对重复性检验数据进行分析时，首先计算了峰面积的平均值（Mean），结果约为 230.5281 mAU*min。接着，根据标准偏差的计算公式，计算每个峰面积与平均值的差的平方和，得出总和约为 4.7034。由此计算得出的标准偏差为 0.8854mAU*min 。进一步计算相对标准偏差（RSD），结果为 0.384%。

序号	峰面积（mAU*min） RSD
1	230.8188
2	232.1407
3	230.4342
4	229.8591
5	230.3002
6	231.4561
7	229.6743

表 5 重复性检验

4 结论

本研究成功建立了在线衍生-高效液相色谱法测定水中氨氮的实验方法。通过对不同实验条件的系统优化，发现最佳的衍生液（A/B）比例为 1：1，流速为 0.05 ：0.05mL/min，反应温度对检测灵敏度有显著影响，较高温度会降低峰面积，进而影响检测结果。此外，重复性检验结果表明，该方法具有良好的重复性和稳定性，适合用于水中氨氮的常规监测和分析。该方法的实施将为水质监测提供有效的技术支持。

参考文献:

- [1] 吴朝霞,潘娜娜,伊郎.水质氨氮的检测技术及其检测质量影响因素研究[J].科技资讯, 2017,15(27): 108-110.
- [2] 陈小霞,卢登峰,李耕.气相分子吸收光谱法测定水体中氨氮的应用及相关研究[J].福建分析测试, 2015,24(05): 53-55.
- [3] 李煜涛.不同条件对纳氏试剂法测定水中氨氮含量的影响[J].实验室检测,2024,2(3): 34-37.
- [4] 沈阳市环境监测中心站.水质 氨氮的测定 水杨酸分光光度法: HJ 536-2009[S].北京: 中国环境科学出版社(2010).

中国仪器仪表杂志