

# HY

## 中华人民共和国海洋行业标准

HY/T XXXXX—XXXX

---

### 海水中痕量硝酸盐的测定 流动分析-镉柱还原-重氮偶联-长光程分光 光度法

Determination of seawater trace nitrate—Flow analysis, cadmium reduction,  
diazotization and spectrophotometric detection with a long path length  
flow cell

(报批稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

---

中华人民共和国自然资源部 发布



# 目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 方法原理.....	1
5 试剂与材料.....	2
6 仪器和设备.....	3
7 样品采集与保存.....	3
8 分析步骤.....	4
9 结果计算与记录.....	5
10 精密度和准确度.....	5
11 质量保证和质量控制.....	6
12 注意事项.....	6
附录 A（规范性）海水中痕量硝酸盐的测定分析记录.....	8
附录 B（规范性）海水中痕量硝酸盐测定的质量控制要求.....	9
参考文献.....	10

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国自然资源部提出。

本文件由全国海洋标准化技术委员会（SAC/TC 283）归口。

本文件起草单位：厦门大学、自然资源部第三海洋研究所。

本文件主要起草人：黄勇明、袁东星、李权龙、张元标、黄舒元。

# 海水中痕量硝酸盐的测定

## 流动分析-镉柱还原-重氮偶联-长光程分光光度法

### 1 范围

本文件规定了流动分析-镉柱还原-重氮偶联-长光程分光光度法测定海水中痕量硝酸盐的方法原理、试剂与材料、仪器和设备、样品采集与保存、分析步骤、结果计算与记录、精密度和准确度、质量保证和质量控制的要求。

本文件适用于海水中  $\text{nmol/L}$  级别的痕量硝酸盐的测定。本方法的检出限为  $6 \text{ nmol/L}$ ，测定下限为  $10 \text{ nmol/L}$ 。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 12763.4 海洋调查规范 第4部分：海水化学要素调查

GB 17378.2 海洋监测规范 第2部分：数据处理与分析质量控制

### 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 方法原理

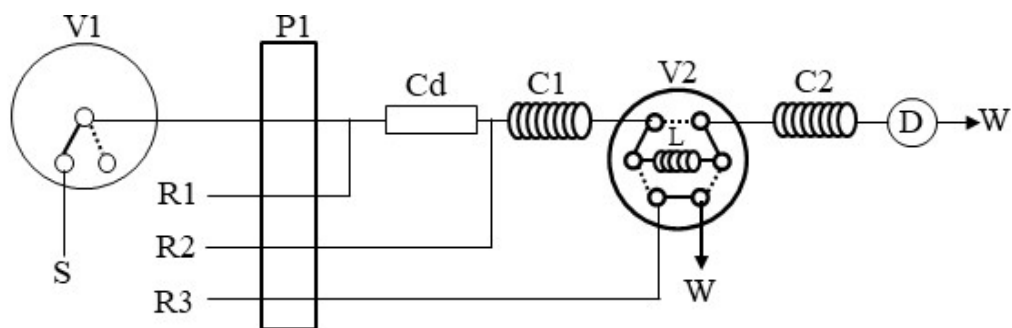
#### 4.1 流动分析系统工作原理

样品与试剂在蠕动泵的推动下进入分析模块，在密闭的管道中按设定的顺序和比例进行混合、反应显色，进入长光程分光光度检测器测定吸光值，分析样品中的被测物质含量。

#### 4.2 化学反应原理

在弱碱性条件下，硝酸盐经镉柱还原为亚硝酸盐；所生成的亚硝酸盐在酸性介质中与磺胺发生重氮化反应，产物与盐酸萘乙二胺偶合生成红色偶氮化合物，由分光光度检测器在参比波长  $700 \text{ nm}$ 、检测波长  $543 \text{ nm}$  处测定。

参考分析流程图见图 1。



说明：

- |                     |                    |                       |
|---------------------|--------------------|-----------------------|
| P1——蠕动泵             | V1——多位选择阀          | V2——六通阀               |
| C1——混合盘管 1, 10 cm   | C2——混合盘管 2, 200 cm | L——定量环, 长度 20 cm      |
| Cd——镉柱 (见 5.19)     | D——带长光程流通池的分光检测器   | S——样品                 |
| R1——氯化铵缓冲液 (见 5.11) | R2——磺胺溶液 (见 5.12)  | R3——盐酸萘乙二胺溶液 (见 5.13) |
| W——废液               |                    |                       |

图 1 流动分析-镉柱还原-重氮偶联-长光程分光光度法测定痕量硝酸盐的分析流程图

## 5 试剂与材料

除非另有说明, 在分析中均使用确认为分析纯的化学试剂, 实验用水均为新制备的超纯水 (电阻率大于等于  $18.0 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ )。

- 5.1 盐酸 (HCl): 优级纯,  $\rho(\text{HCl})=1.19 \text{ g/mL}$ 。
- 5.2 氯化铵 ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ): 优级纯。
- 5.3 氨水: 优级纯,  $\rho(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O})=0.9 \text{ g/mL}$ 。
- 5.4 磺胺 ( $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ )。
- 5.5 盐酸萘乙二胺 ( $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ )。
- 5.6 镀铜镉粒 (40~60 目)。
- 5.7 硝酸钾 ( $\text{KNO}_3$ ): 优级纯, 在  $105^\circ\text{C} \sim 115^\circ\text{C}$  下烘干并恒重后, 保存在干燥器中。
- 5.8 亚硝酸钠 ( $\text{NaNO}_2$ ): 优级纯, 在  $105^\circ\text{C} \sim 115^\circ\text{C}$  下烘干并恒重后, 保存在干燥器中。
- 5.9 10% (V/V) 盐酸溶液。配制方法为: 量取 139 mL 盐酸 (见 5.1), 用水稀释至 500 mL, 盛于高密度聚乙烯瓶中, 现用现配。
- 5.10 盐酸溶液:  $c(\text{HCl})=0.5 \text{ mol/L}$ 。配制方法为: 量取 40 mL 盐酸 (见 5.1) 用水稀释至 1 L。
- 5.11 氯化铵缓冲液:  $c(\text{NH}_4\text{Cl})=10 \text{ g/L}$ ,  $\text{pH}=8.2$ 。配制方法为: 称取 10.0 g 氯化铵 (见 5.2) 溶于约 600 mL 水中, 用氨水 (见 5.3) 调节 pH 值至 8.2, 最后稀释至 1 L。贮存于高密度聚乙烯瓶中, 在  $4^\circ\text{C}$  下避光保存, 可稳定 1 个月。
- 5.12 磺胺溶液:  $c(\text{NH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)=1.5 \text{ g/L}$ 。配制方法为: 称取 0.75 g 磺胺 (见 5.4), 溶于 500 mL

- 盐酸溶液（见 5.10）。贮存于棕色试剂瓶中，在 4℃下保存，可稳定 7 d。
- 5.13 盐酸萘乙二胺溶液： $c(\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\cdot 2\text{HCl}) = 0.15 \text{ g/L}$ 。配制方法为：称取 0.075 g 盐酸萘乙二胺（见 5.5）溶于 500 mL 水中。盛于棕色试剂瓶中，现用现配。
  - 5.14 硝酸盐标准贮备液： $c(\text{KNO}_3) = 10.0 \text{ mmol/L}$ 。配制方法为：准确称取 0.2528 g 硝酸钾（见 5.7）溶于水，并定容至 250 mL，贮存于高密度聚乙烯瓶中，在 4℃下避光保存，可稳定 6 个月。
  - 5.15 硝酸盐标准中间液： $c(\text{KNO}_3) = 0.25 \text{ mmol/L}$ 。配制方法为：准确量取 2.50 mL 硝酸盐标准贮备液（见 5.14），定容至 100 mL，贮存于高密度聚乙烯瓶中，在 4℃下避光保存，可稳定 15 d。
  - 5.16 硝酸盐标准使用液： $c(\text{KNO}_3) = 5.00 \mu\text{mol/L}$ 。配制方法为：准确量取 2.00 mL 硝酸盐标准中间液（见 5.15），定容至 100 mL，贮存于高密度聚乙烯瓶中，临用时现配。
  - 5.17 蠕动泵泵管。样品和试剂 R1 泵管内径 1.85 mm，试剂 R2 和 R3 的泵管内径 1.02 mm。
  - 5.18 聚四氟乙烯管。流路管道为内径 0.75 mm 的聚四氟乙烯管。
  - 5.19 镉柱。制备方法为：将镀铜镉粒（见 5.6）填于长度 15 cm、内径 4 mm 的玻璃柱管中，两端用玻璃棉塞住，防止镉粒漏出。

## 6 仪器和设备

- 6.1 商品化或实验室自制的流动分析装置，参见图 1，主要由下列各部分组成：
  - 蠕动泵；
  - 多位选择阀，阀位两个以上，切换时间 1 s 以内；
  - 六通阀；
  - 镉柱；
  - 流动分析用分光光度检测器；
  - 数据处理及仪器控制软件。
- 6.2 长光程流通池，长度 1000 mm，内径 0.55 mm。
- 6.3 分析天平：感量为 0.0001 g。
- 6.4 普通天平：感量为 0.01 g。
- 6.5 pH 计：精度为 0.02。
- 6.6 一般化学实验室常用的仪器和设备。

## 7 样品采集与保存

样品采集与保存措施如下：

- a) 采样前，应依次用盐酸溶液（见 5.9）、超纯水清洗所有接触样品的器皿；
- b) 采样过程注意防止污染，应戴无营养盐污染的一次性手套，每采一次样品应更换手套；
- c) 先用样品将高密度聚乙烯瓶润洗三次以上，再将样品采集于瓶中；
- d) 样品一般无需过滤，如果必须过滤，要特别注意防止过滤过程中引入的污染；
- e) 样品采集后宜现场分析，若无法及时分析，应在 -20℃下速冻保存并在 7 d 内分析完毕。

## 8 分析步骤

### 8.1 仪器调试

按照图 1 所示连接分析系统。开机后，先用超纯水代替试剂，检查整个分析流路的密闭性及液体流动的顺畅性。待基线稳定后（约 20min），将各管道的入口端置入对应的试剂或样品中。

### 8.2 仪器运行程序设定

按表 1 设定运行程序和参数，分析流路参见图 1。执行程序时，蠕动泵保持运行，水样和试剂 R1（氯化铵缓冲液）的流速均为 0.67 mL/min，试剂 R2（磺胺溶液）和试剂 R3（盐酸萘乙二胺溶液）的流速为 0.20 mL/min。。具体步骤如下：

- a) 步骤 1，多位选择阀 V1 处于实线位，六通阀 V2 处于虚线位，在蠕动泵的推动下，样品作为载流进入流路，与试剂 R1（氯化铵缓冲液）在线混合后进入镉柱，样品中的硝酸盐被还原成亚硝酸盐，再与试剂 R2（磺胺溶液）在线混合；与此同时，试剂 R3（盐酸萘乙二胺溶液）在蠕动泵的推动下充满定量环；
- b) 步骤 2，六通阀 V2 切换至实线位，样品将定量环中的试剂 R3（盐酸萘乙二胺溶液）推出，并在混合盘管 C2 内发生显色反应；反应后的溶液进入长光程流通池测定吸光值；
- c) 步骤 3 和 4，多位选择阀 V1 切换至虚线位，六通阀 V2 重复步骤 1 和步骤 2 的程序，测定置于多位选择阀 V1 虚线位的样品。同时，原本置于实线位的样品可更换为下一个待测样。如此循环，直至完成所有样品的测定。

表 1 分析系统的运行程序和参数

步骤	V1 阀位	V2 阀位	时间 s	说明
1	实线位	虚线位	90	第一个样品中的硝酸盐被还原成亚硝酸盐；试剂 R3（盐酸萘乙二胺溶液）充满定量环
2	实线位	实线位	90	样品将定量环中的试剂 R3（盐酸萘乙二胺溶液）推入反应流路；检测第一个样品
3	虚线位	虚线位	90	第二个样品中的硝酸盐被还原成亚硝酸盐；试剂 R3（盐酸萘乙二胺溶液）充满定量环
4	虚线位	实线位	90	样品将定量环中的试剂 R3（盐酸萘乙二胺溶液）推入反应流路；检测第二个样品

### 8.3 标准系列溶液的制备

标准系列 I：分别移取 0.00 mL、0.20 mL、0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL 和 2.00 mL 的硝酸盐标准使用液（见 5.16），用超纯水稀释定容至 100 mL，制备 6 个浓度点的标准系列。硝酸盐的浓度分别为：0.0 nmol/L、10.0 nmol/L、25.0 nmol/L、50.0 nmol/L、75.0 nmol/L 和 100.0 nmol/L。



标准系列 II：分别移取 0.00 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL 和 6.00 mL 的硝酸盐标准使用液（见 5.16），用超纯水稀释定容至 100 mL，制备 7 个浓度点的标准系列。硝酸盐的浓度分别为：0.0 nmol/L、50.0 nmol/L、100.0 nmol/L、150.0 nmol/L、200.0 nmol/L、250.0 nmol/L 和 300.0 nmol/L。

#### 8.4 标准曲线的绘制

根据待测样品浓度，选择合适的标准系列（见 8.3），依次从低浓度到高浓度取适量标准系列溶液，置于样品瓶中，启动分析系统进行测定。以测定吸光值（峰高）为纵坐标，对应的硝酸盐浓度为横坐标，绘制标准曲线。

#### 8.5 样品测定

取适量海水样品，采用 8.4 相同的条件，进行样品的测定。

#### 8.6 空白试验

用超纯水代替样品，按照 8.5 样品测定步骤进行空白试验。

### 9 结果计算与记录

对 8.4 绘制的标准曲线进行线性拟合后，得到标准曲线拟合方程。样品中硝酸盐的浓度按照式（1）进行计算。测定分析记录表见附录 A。

$$c = \frac{y-b}{a} - c_{NO_2^-} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$c$ ——样品中硝酸盐的浓度，单位为纳摩尔每升（nmol/L）；

$y$ ——测定的吸光值（峰高）；

$b$ ——标准曲线拟合方程的截距；

$a$ ——标准曲线拟合方程的斜率；

$c_{NO_2^-}$ ——样品中原有亚硝酸盐的浓度（nmol/L）。

计算结果表示到小数点后一位。

### 10 精密度和准确度

#### 10.1 精密度

7 家实验室分别使用本方法对硝酸盐浓度为 50.0 nmol/L 和 150.0 nmol/L 的样品进行了测试（ $n=7$ ），测定平均值分别为 52.1 nmol/L ~57.8 nmol/L 和 149.5 nmol/L ~161.9 nmol/L；重复性标准差分别为 1.5 nmol/L 和 2.8 nmol/L；重复性限分别为 4.2 nmol/L 和 7.8 nmol/L；再现性标准差分别为 2.8 nmol/L 和 5.1

nmol/L；再现性限分别为 7.8 nmol/L 和 14.3 nmol/L。

在同一实验室，由同一操作者使用相同设备，按相同的测试方法，并在短时间内对同一被测对象相互独立进行测试获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 20%，以大于 20%的情况不超过 5%为前提。

在不同的实验室，由不同的操作者使用不同的设备，按相同的测试方法，对同一被测对象相互独立进行测试获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 20%，以大于 20%的情况不超过 5%为前提。

## 10.2 准确度

取适量浓度为 10.0  $\mu\text{mol/L}$  的硝酸盐国家一级标准物质，用超纯水稀释后作为样品（稀释后浓度分别为 50 nmol/L 和 150 nmol/L），由 7 家实验室分别使用本方法进行测试，结果的相对偏差范围为 -2.4%~6.7%。7 家实验室分别对实际海水样品进行加标回收测定，加标浓度范围为 25.0 nmol/L~100.0 nmol/L，回收率范围为 96.8%~117.6%。

## 11 质量保证和质量控制

质量保证和质量控制应严格按照GB 17378.2和GB 12763.4的相关规定执行。

每批样品或连续测定8 h后应测定一个全程方法空白样、一组检测样品加标样、一组平行双样；有条件的应再测定一个标准参考物质样品。全程方法空白样以超纯水替代样品，测定步骤同样品。测定结果应符合附录B的规定。

建议每分析10个样品，使用标准曲线中间浓度溶液进行校准核查。如果测定值与理论值的相对误差绝对值在10%之内，说明测定系统在可控范围内。如果相对误差超过 $\pm 10\%$ ，说明分析系统失控，则应检查仪器、试剂溶液是否正常，确定无疑后重新配制、测定、绘制标准曲线，上一个合格检查值之后测定的样品需重新测定，并依照新的标准曲线计算浓度。

## 12 注意事项

本方法操作中应注意如下事项：

- 实验用超纯水应当天制备，以避免空白过高；
- 试剂和环境温度会影响分析结果，冰箱内贮存的试剂取出后应放置至室温后再使用，分析过程中宜保持室温恒定，温度波动不宜过大；
- 每批样品分析均应绘制标准曲线。实验过程中使用新配制的试剂或标准系列溶液时，应重新绘制标准曲线；
- 测样过程中，须避免气泡进入镉柱。当发现镉柱内出现白色沉淀物或镉粒变成银灰色时，应检查镉柱还原率。镉柱还原率的计算按照 GB 17378.4 的规定执行。若镉柱还原率 $<90\%$ ，则应活化或更换镉柱；
- 每次样品测试前、测试后或测试过程中出现基线漂移、管路堵塞等情况时，需要清洗管道，可

采用以下清洗方法：移除镉柱，依次使用超纯水、1 mol/L 氢氧化钠溶液、超纯水、1 mol/L 盐酸溶液、超纯水清洗管路各 10min。

附录 A  
(规范性)

海水中痕量硝酸盐的测定分析记录

海水中痕量硝酸盐的测定分析记录见表 A.1。

表 A.1 海水中痕量硝酸盐的测定分析记录表

海水中痕量硝酸盐的测定流动分析-镉柱还原-重氮偶联-长光程分光光度法

海区\_\_\_\_\_调查船\_\_\_\_\_采样日期：\_\_\_\_\_年\_\_\_\_\_月\_\_\_\_\_日

仪器型号\_\_\_\_\_分析日期：\_\_\_\_\_年\_\_\_\_\_月\_\_\_\_\_日 共\_\_\_\_\_页 第\_\_\_\_\_页

序号	站号	样品编号	检测信号 (峰高/峰面积)			样品中硝酸盐浓度 nmol/L	备注
			平行 1	平行 2	平均值		
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
备注	标准曲线线性回归拟合方程: $y=ac+b$ ( $a=$ $b=$ $r=$ )						

分析者:

校对者:

附录 B  
(规范性)  
海水中痕量硝酸盐测定的质量控制要求

海水中痕量硝酸盐测定的数据质量控制要求见表 B.1。

**表 B.1 海水中痕量硝酸盐的测定的质量控制要求**

项目	参数	要求	频率
方法空白样	空白浓度	<8.0 nmol/L	每次绘制标准曲线溶液前测定
检测样品加标样	加标回收率	80%~120%	测定每批样或连续测定 8 h 应做
平行双样	平行双样相对偏差 <sup>a</sup>	≤±10%	测定每批样或连续测定 8 h 应做
<p><sup>a</sup> 平行双样相对偏差以下式计算：</p> $\eta = \frac{ c_1 - c_2 }{c_1 + c_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(B.1)$ <p>式中：  <math>\eta</math>——相对偏差；  <math>c_1</math>、<math>c_2</math>——平行双样测得的硝酸盐浓度，nmol/L。</p>			

### 参 考 文 献

- [1] GB 17378.3-2007 海洋监测规范 第3部分：样品采集、贮存与运输
  - [2] GB 17378.4-2007 海洋监测规范 第4部分：海水分析
  - [3] HY/T 147.1-2013 海洋监测技术规程 第1部分：海水
-