

doi:10.3969/j.issn.2095-1035.2024.07.005

水中硝酸盐氮稳定同位素比值测定 前处理方法的优化

袁红朝^{1,2} 贺珍¹ 张丽萍¹ 耿梅梅¹ 许丽卫¹
陈闻¹ 彭灿¹ 唐思宇¹ 王久荣¹

(1. 中国科学院 亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125;
2. 农业生态工程湖南省重点实验室, 长沙 410125)

摘要 水体中过量的硝酸盐会导致严重的水生生态恶化和环境污染问题。氮稳定同位素技术为水体污染来源的判断及水生系统氮素转化机理研究提供了强有力的工具。在前人基础上, 通过开发 Cu^{2+} -Cd 复合催化结合超声波辅助加速反应, 优化硝酸盐氮同位素比值测定前处理方法。考察了 Cu^{2+} 添加量、超声功率以及反应时间变化对 NO_3^- -N 转化生成 N_2O 气体及其氮同位素比值的影响, 在单因素实验基础上采用正交实验优化得到了最佳反应条件, 并采用不同 ^{15}N 同位素比值的 KNO_3 标准溶液结合气体预浓缩装置与稳定同位素质谱仪联用系统对新方法进行了验证。新方法单次反应体系中氮最低量为 $1.0\ \mu\text{g}$, 其中自然丰度和高丰度样品 $\delta^{15}\text{N}$ 分析精度小于 1% , 富集样品的 ^{15}N 分析精度可达 $0.1\ \text{atom}\%$ 以内 ($\text{CV} < 1\%$); 且所有标准样品的 ^{15}N 测定值与参考值基本一致。将优化后的方法应用于不同来源水样中硝酸盐氮稳定同位素比值测定, 均可获得较好的精度, 较原方法提高了前处理效率, 且精度更优。建立的方法准确可靠, 操作简单, 耗时短, 适用于水中硝酸盐氮稳定同位素比值测定的批量、快速前处理。

关键词 水体; 硝酸盐; 氮同位素测定; 前处理; 超声波辅助

中图分类号: O657.32 文献标志码: A 文章编号: 2095-1035(2024)07-0889-07

Optimization of Pretreatment Methods for Nitrogen Isotopic Analysis of Nitrate in Water

YUAN Hongzhao^{1,2}, HE Zhen¹, ZHANG Liping¹, GENG Meimei¹, XU Liwei¹,
CHEN Wen¹, PENG Can¹, TANG Siyu¹, WANG Jiurong¹

(1. CAS, Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of
Subtropical Agriculture, Changsha, Hunan 410125, China;

2. Hunan Provincial Key Laboratory of Agricultural Ecological Engineering, Changsha, Hunan 410125, China)

Abstract Excessive nitrate in water can lead to serious ecological degradation and environmental pollution. The nitrogen stable isotope technology provides a powerful tool for the identification of water pollution sources and the study of nitrogen transformation mechanisms in aquatic systems. On the basis of

收稿日期: 2023-10-31 修回日期: 2024-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(42177330, U21A2007); 中国科学院技术支撑人才项目(2022000014); 中国科学院仪器功能开发项目

作者简介: 袁红朝, 女, 正高级工程师, 主要从事稳定同位素技术在生态学及微生物生态学方面的应用研究。E-mail: yuanhongzhao@isa.ac.cn

引用格式: 袁红朝, 贺珍, 张丽萍, 等. 水中硝酸盐氮稳定同位素比值测定前处理方法的优化[J]. 中国无机分析化学, 2024, 14(7): 889-895.

YUAN Hongzhao, HE Zhen, ZHANG Liping, et al. Optimization of Pretreatment Methods for Nitrogen Isotopic Analysis of Nitrate in Water[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2024, 14(7): 889-895.

previous studies, a pre-treatment method of Cd-Cu^{2+} catalytic compound combined with ultrasonic assisted acceleration reaction was developed for nitrogen isotopic analysis of nitrate in water. The effects of Cu^{2+} addition, ultrasound power, and reaction time on the conversion of NO_3^- -N to N_2O gas and its nitrogen isotope ratio were investigated. Based on single factor experiments, the optimal reaction conditions were optimized using orthogonal experiments. The new method was validated using KNO_3 standard solutions with different ^{15}N isotope ratios combined with a gas pre concentration device and a stable isotope mass spectrometer system. The minimum nitrogen content in a single reaction system of the new method was as low as $1.0\ \mu\text{g}$, with natural and high abundance samples $\delta^{15}\text{N}$ analysis accuracy were within 1‰ . The ^{15}N analysis accuracy of enriched samples can reach within $0.1\ \text{atom}\%$ ($\text{CV}<1\%$). And the ^{15}N measurement values of all standard samples were basically consistent with the reference values. The optimized method had been applied to analyze stable isotope ratios of nitrate nitrogen in various water samples from different sources and achieved good accuracy. The comparison of the analytical data from the two analytical systems indicated that the new method improved pre-treatment efficiency and had better accuracy compared to the original method. Overall, the established method has the advantages of accurate, reliable, easy to operate and time-consuming, suitable for batch and rapid pre-treatment of N stable isotope ratio analysis of nitrate in water.

Keywords aquifer; nitrate; stable nitrogen isotopic analysis; pretreatment method; ultrasonic assisted

近年来,水生生态系统的硝酸盐污染问题已成为全球关注的热点^[1-2]。稳定同位素技术被广泛应用于地球与环境科学研究中^[3-4],也是水体硝酸盐污染物来源识别及其污染净化技术研发与去除机理研究的重要工具^[5-6]。

采用稳定同位素质谱仪进行水中硝酸盐的稳定氮同位素测定,需先将硝态氮转化为 N_2 或者 N_2O 气体才能进入质谱仪进行检测。目前,应用较为广泛的前处理分析方法为反硝化细菌法^[7-8]和化学 N_2O 发生法^[9-11],是分别通过反硝化细菌或者化学方法将水中微量硝酸盐转化为 N_2O 气体,再通过带自动预浓缩装置的同位素比值质谱仪测定 N_2O 中的氮稳定同位素比值,可以实现低样品量下硝酸盐中稳定氮同位素质谱检测,且不受铵盐或空气氮的影响。其中,细菌反硝化法需要多点标准曲线校正,前处理时间较长,且所需反硝化细菌需要专门培养,对实验室设备要求较高。而化学转化法的反应条件相对易于控制,对实验仪器要求也较低,易于实现标准化操作。化学转化法主要分为“一步法”^[9-10]和“两步法”^[11]。如,福建省市场监督管理局发布的《水中硝酸盐氮同位素测定 化学转化法》(DB35/T 2006—2021)地方标准方法,采用的为“两步法”,该方法通过用锌片将反应体系中的 Cd^{2+} 还原为 Cd , Cd 将 NO_3^- 还原为 NO_2^- ;在酸性缓冲介质中,再用叠氮化钠将 NO_2^- 还原为 N_2O 气体,经纯化、富集、分离后用稳定同位素比质谱仪测定其氮同位素组成。该方法使用了剧毒试剂,人员与环境安全风险较高。“一步

法”则是在同一反应体系酸性条件下($\text{pH}=4.7$)硝酸盐被镀铜镉粒还原成亚硝态氮(NO_2^-)和羟胺(NH_2OH),并进一步生成氧化亚氮气体(N_2O)。该方法不涉及剧毒物品,操作流程易实现自动化,已被广泛应用于土壤硝态氮同位素分析检测,如国家标准方法《土壤质量 土壤中无机态氮 ^{15}N 丰度的测定 稳定同位素比值质谱法》(GB/T 42488—2023)中涉及硝态氮的氮同位素测试方法则采用了“一步法”。该方法还未被用于水中硝酸盐氮同位素测定,主要存在前处理效率低,耗时长(需要振荡处理 16 h)等问题。

根据硝酸盐氮镉粒预还原的相关研究结果发现, Cu^{2+} 可帮助镉粒催化剂的再生^[12],此外, Cu^{2+} 还可催化反应^[13],从而有效提高其转化效率。而超声波空化作用已被验证可以辅助化学催化反应,同时有效帮助反应物的扩散并抑制反应产物在催化剂上的堆积,提高催化反应效率等优点^[14]。因此,本文拟通过添加 Cu^{2+} 结合超声波辅助,提高 N_2O 气体转化效率,并在考察 Cu^{2+} 添加量、反应时间以及超声功率等单因素影响的基础上,采用正交实验进一步优化并验证反应条件,建立一种高效准确的硝酸盐氮稳定同位素测定方法,以期获得更准确有效的结果,推进水体硝酸盐污染物来源与污染净化机理研究。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

稳定同位素比质谱仪 MAT253;高灵敏度电子

轰击离子源、10 kV 加速电压、C/N 法拉第杯。质谱仪主机与外设的系统控制、数据采集和处理均由 Isodat NT 软件自动完成。Precon 痕量气体预浓缩装置配备: T1~T3 冷阱、Combi PAL 自动进样器、96 位气体样品盘、顶空瓶(12 mL)、化学阱(填充高氯酸镁和碱石灰)、poraPlot Q 色谱柱、He 载气(气体纯度均 > 99.999%)。以上仪器均购自美国 Thermo Scientific 公司。

XS3DU 百万分之一天平(梅特勒-托利多,感量 0.001 mg)、Scientz-12N/A 冷冻干燥机(宁波新芝)、KQ-3200DE 超声波仪(昆山舒美)、ZWY-322B 恒温摇床(上海智诚)。

1.2 主要试剂与材料

1.2.1 标准品

硝酸钾标准品 IAEA-NO3 ($\delta^{15}\text{N}_{\text{air}} = 4.7\text{‰}$)、USGS32($\delta^{15}\text{N}_{\text{air}} = 180\text{‰}$)、USGS34($\delta^{15}\text{N}_{\text{air}} = -1.8\text{‰}$)均购于 IAEA 国际原子能机构。

硝酸钾富集标准样品: $^{15}\text{N-KNO}_3$ (10.1 atom%, 购于 Sigma-Aldrich, 纯度 $\geq 99.9\%$),以低丰度的标准溶液作为稀释剂,将 10.1 atom% ^{15}N 标准溶液分别制备成 ^{15}N 丰度 1.0 atom% 和 2.0 atom% 左右的硝酸钾标记溶液 R_1 和 R_2 ,参考值分别为 0.98 atom% 和 2.12 atom% (中国科学院亚热带农业生态研究所稳定同位素实验室标定)。

1.2.2 前处理试剂及材料

氨基磺酸溶液 [$c(\text{NH}_2\text{SO}_2\text{H}) = 0.2\text{ mol/L}$]、醋酸-醋酸钠缓冲液 [$c(\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}) = 1\text{ mol/L}$, $\text{pH} = 4.7$]、五水硫酸铜均购于国药集团化学试剂有限公司,均为分析纯试剂。

镉粒还原剂(市售镀铜镉粒,北京鹏利驰科技有限公司)、实验用水均为超纯水(ELGA OQ015MMX1;电阻率 $18.2\text{ M}\Omega \cdot \text{cm}@25$)。

1.2.3 水样采集和准备

自然丰度水样 W_1 和 W_2 分别来自于湖南长沙东沙井、中国科学院亚热带农业生态研究所长沙农业环境监测研究站的地表径流水,富集水样 L_1 和 L_2 来自于水中硝酸盐去除模拟实验(添加 $^{15}\text{N-KNO}_3$ 丰度为 2.0 atom%)。样品采集时间为 2023 年 8 月 20 日,密封保存于 500 mL 聚四氟乙烯瓶中并于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下运输至实验室。水样中硝态氮、亚硝态氮和铵态氮含量用 AA3 流动注射仪测定^[15] (SEAL AA3, Norderstedt, 德国),具体待测水样信息见表 1。

表 1 待测水样的信息

Table 1 Information of the water samples to be tested				
/(mg · L ⁻¹)				
Sample	Site	NO ₃ ⁻ -N	NO ₂ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N
W ₁	East manhole	0.137	0.007	0.003
W ₂	Xiang River tributaries	2.39	0.066	0.048
L ₁	High nitrogen treatment	6.05	0.006	2.03
L ₂	Low nitrogen treatment	1.02	0.004	7.03

1.2.4 参比气体

N_2O 参比气体:参考值可溯源至法国液空公司的 N_2O 标准气体 (Lot. 160-401912433-1),该 N_2O 参比气体的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Air}}\text{‰}$ 值为 $2.2\text{‰} \pm 0.3\text{‰}$ 。

1.3 实验方法

1.3.1 单因素实验

硫酸铜浓度 0、2.0、10.0、20 和 50 mmol/L,超声功率 0、30、60、90、120 W,反应时间 60、120、180 和 300 min;考察以上三单因素对硝态氮转化 N_2O 量(以 N_2O 质谱检测 m/z 44 离子的信号峰高表示)的影响。

1.3.2 正交实验

根据单因素实验结果,进一步选取 Cu^{2+} 浓度,超声功率及反应时间 3 因素 2 水平进行正交实验参数优化,并以 $\text{NO}_3^- - \text{N}_2\text{O}$ 转化率和氮同位素比值为实验考察指标。正交实验设计见表 2。

表 2 正交实验因素与水平

Table 2 Factors and levels of orthogonal test			
Levels	Factors		
	$c(\text{Cu}^{2+})/$ (mmol · L ⁻¹)	Ultrasonic power/ W	Reaction time/ min
1	5	30	180
2	10	60	240

1.3.3 样品制备

在确定最优转化反应体系的基础上,对硝酸钾标准样品和待测水样进行前处理。具体操作步骤如下:依据样品中硝态氮含量,取一定量水样(约含 1~5 μg 硝态氮)于 12 mL 顶空瓶中在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 下冷冻过夜后冷冻干燥 24 h,再加入 0.1 mL 的氨基磺酸溶液,加盖后,置于温控摇床上振荡 5 min,去除水样中含有的亚硝酸盐干扰。加入 20.0 mg 镀铜镉粒后压紧瓶盖,抽真空并用氦气清洗,再加入 1.0 mL 醋酸-醋酸钠(含硫酸铜)缓冲液。将反应瓶置于超声仪中,转化完成后注入 25 mL 的高纯氦气,每组标准样品重复 6 次。同时做试剂空白(本研究中试剂

空白本底未检出)。

1.3.4 测定方法

利用气相色谱测试上述实验反应生成的 N_2O 气体浓度,计算 NO_3^- 反应生成 N_2O 的转化率。反应瓶中剩余气体用带自动预浓缩装置的同位素比值质谱仪由自动进样器按程序依次在连续流状态下取样、测定 N_2O 的 $\delta^{15}\text{N}\text{‰}$ 。预浓缩装置气体 He 流速 20 mL/min ,冷阱 T2 浓缩时间 180 s ,冷阱 T3 浓缩时间 300 s ,色谱柱温度 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 。待仪器稳定后,将气体样品置于 Combi PAL 自动进样器上,气体样品经过化学阱(高氯酸镁和碱石灰)除去大部分的水和 CO_2 后依次通过 T2/T3 冷阱浓缩。浓缩后含 N_2O 的混合气通过气相色谱柱分离,依次进入稳定同位素质谱仪检测 N_2O m/z 44、45 和 46 质量数的离子流强度,利用校正后的离子流强度比 R45 可得到 N_2O 的氮同位素比值。

1.4 统计分析

所有测定结果均为 6 次重复的平均值。使用 SPSS 16.0 软件统计,数据采用统计描述、方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 检验。

2 结果与讨论

2.1 Cu^{2+} 浓度的影响

添加不同浓度 Cu^{2+} ,按照实验方法振荡 16 h 制备 IAEA- NO_3 标准溶液($5\text{ }\mu\text{g NO}_3^-$ -N,下同),以考察 Cu^{2+} 浓度对反应的影响,结果见图 1。

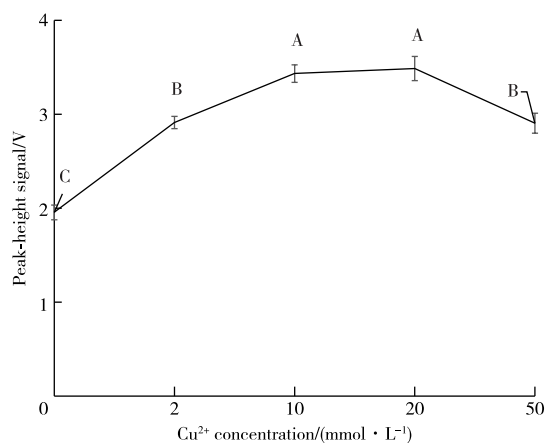


图 1 Cu^{2+} 浓度含量对硝态氮转化产量的影响

Figure 1 Effect of Cu^{2+} concentrations on the yield of NO_3^- -N conversion.

由图 1 可知,添加 Cu^{2+} 含量对硝态氮转化产量有显著影响,且随着 Cu^{2+} 含量增加,硝态氮转化生

成 N_2O 气体产量增加,当 Cu^{2+} 含量在 $10\sim 20\text{ mmol/L}$ 时转化产量达到最高(信号 3.5 V),但随着 Cu^{2+} 含量的继续增加,硝态氮转化生成 N_2O 气体产量出现了下降,这可能是在反应过程中过高浓度 Cu^{2+} 占据了大量反应位点,或者是副产物增加等,造成产物中 N_2O 气体产量不高的原因。

2.2 超声功率的影响

选择不同的超声功率,在 Cu^{2+} 含量 10 mmol/L 、超声时间 120 min 条件下,制备 IAEA- NO_3 标准溶液,考察超声功率的影响,结果如图 2 所示。

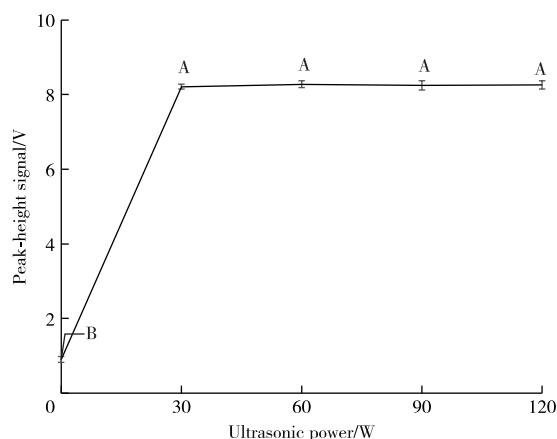


图 2 超声功率对硝态氮转化产量的影响

Figure 2 Effect of ultrasonic powers on the yield of NO_3^- -N conversion.

由图 2 可知,没有超声波辅助时,添加 Cu^{2+} 依然有部分硝态氮转化,但转化率很低(信号峰高仅为 0.85 V);随着超声波辅助的介入,超声波特有的空化现象非常明显,空化过程使得分子分解、化学键断裂和产生自由基等,同时也有利于反应物与镀铜颗粒充分接触以及产物的扩散,大大增加了转化反应进程,转化率迅速提升(功率 30 W 、信号峰高 8.2 V),较无超声波辅助提高了近 10 倍,同时因超声空化的饱和趋于平稳,超声功率增加反而略有下降。

2.3 反应时间的影响

选择不同的反应时间,在 Cu^{2+} 含量 10 mmol/L 、超声功率 30 W 的条件下,制备 IAEA- NO_3 标准溶液,考察反应时间的影响,结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出,硝态氮转化 N_2O 产量在超声辅助下 180 min 时达到最大,其后 N_2O 产量反而下降。可能这是因为长时间反应导致复杂副反应及副产物增多降低 N_2O 产率的缘故。

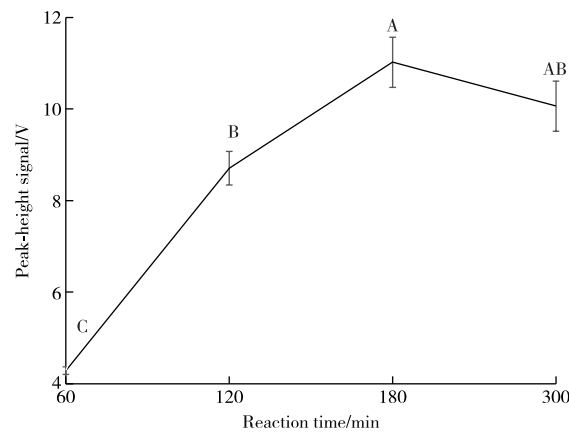


图 3 反应时间对硝态氮转化产量的影响
Figure 3 Effect of reaction time on the yield of NO₃⁻-N conversion.

2.4 正交法优化转化反应

根据设计的正交表对单因素中硫酸铜、超声功率和超声时间双因素反应条件参数进行了优化实验,结果见表 3。

由表 3 可知,NO₃⁻ 的转化率均在 70% 以上,对 NO₃⁻ 转化率影响因素的主次顺序为 A>B>C,在超声波功率大于 30 W,反应时间大于 180 min 时,增加超声功率及延长反应时间已不能明显提升 NO₃⁻ 转化率。而氮同位素比值影响因素的主次顺序为 C>A>B,而延长反应时间导致 IAEA-NO₃ 标样-N₂O 的同位素比值偏正 1‰ 以上。综合考虑,选择其最优组合为 A2B1C1,既保证了较高的 NO₃⁻ 的转化率(约 80%),也防止了因延长反应时间导致副反应造成同位素分馏情况。

表 3 正交实验结果

Table 3 Orthogonal experimental results

Experiment No.	Factors			NO ₃ ⁻ yield/ %	N ₂ O δ ¹⁵ N _{air} /‰
	A Cu ²⁺ concentration/(mmol · L ⁻¹)	B Ultrasonic power/W	C Reaction time/min		
1	1	1	1	75.6	4.6
2	1	2	1	76.2	4.7
3	1	1	2	74.7	6.1
4	1	2	2	73.9	6.2
5	2	1	1	79.7	4.4
6	2	2	1	80.5	4.5
7	2	1	2	80.5	6.3
8	2	2	2	79.7	6.9
NO ₃ ⁻ -N ₂ O Yield/%	K1	300.4	310.5	312.0	
	K2	320.4	310.3	308.8	
	R	-20	0.2	3.2	
N ₂ O δ ¹⁵ N _{air} /‰	K1	21.6	21.4	18.2	
	K2	22.1	22.3	25.5	
	R	0.5	1.9	9.1	

2.5 NO₃⁻-N 含量的影响

按照确认的反应体系条件(Cu²⁺ 含量 10 mmol/L、超声波功率 30 W、反应时间 180 min),参考水体中硝酸盐含量,对 0.5~10.0 μg N 共 7 个浓度梯度的硝酸钾标准品 IAEA-NO₃ 溶液进行前处理,验证反应体系中 NO₃⁻-N 含量对转化率和氮同位素的影响。结果如图 4 所示,该套前处理反应体系的 N₂O 产率为 40%~92%,且随着反应体系氮含量的增加,N₂O 的产率增加,与以前的研究结果^[10] 基本一致。标准硝酸钾参比溶液的氮同位素比值测定结果显示,当 NO₃⁻-N 含量在 1.0~10.0 μg 时,测定结果与参考值 4.7‰ 基本一致(差值小于 0.5‰),前处理(包括冷冻干燥)过程未对样品造成同位素分馏,6 次重复测定的标准偏差也小于 1.0‰。而低含量参

比溶液 δ¹⁵N 值测定的准确度和精密度均较差,重复误差在 2‰,与标定值偏离超过了 3‰,主要是由于 NO₃⁻-N 转化 N₂O 气体反应不完全(产率<50%),导致氮同位素分馏,测定结果较参考值偏低。因此,在保证理想的测试准确度和精密度条件下,推荐单次反应体系中氮最低量为 1.0 μg N。考虑到质谱仪检测量程和线性范围,建议体系中加入的硝态氮含量不超过 10.0 μg。

2.6 测定 NO₃⁻ 中¹⁵N 的准确度和精密度

按照上述测试条件对不同¹⁵N 丰度的标准参比溶液进行前处理并测定其¹⁵N 丰度,结果见表 4。所有标准参比样品¹⁵N 比值均能获得较好的精密度和准确度。其中自然丰度和高丰度样品的精密度为 0.6‰~0.8‰,测定值与标准值基本一致,偏差在

0.2‰~0.8‰。对于富集标记样品,精密度为0.004 atom‰~0.009 atom‰($CV<1\%$),测定值与标准值基本一致,偏差小于0.02 atom‰。

2.7 水样中硝态氮的测试

根据前处理最佳样品量的推荐要求,取一定量水样进行冷冻干燥浓缩。浓缩后的样品分别采用“一步法”和改进后“一步法”进行前处理,测定硝酸盐的氮稳定同位素比值,测定结果见表5。由表5可知,采用两种方法对不同来源水样中硝酸盐氮同位素进行测试均能得到较好的结果,其中自然丰度样品的精度均小于1‰,方法之间的偏差小于0.5‰;标记样品的精度均小于0.01 atom‰($CV<1\%$),方法之间偏差小于0.02 atom‰。两种方法均适用于环境样品水中硝酸盐氮同位素比值测定,而改进后的方法精度更优,操作更简单,处理效率更高。

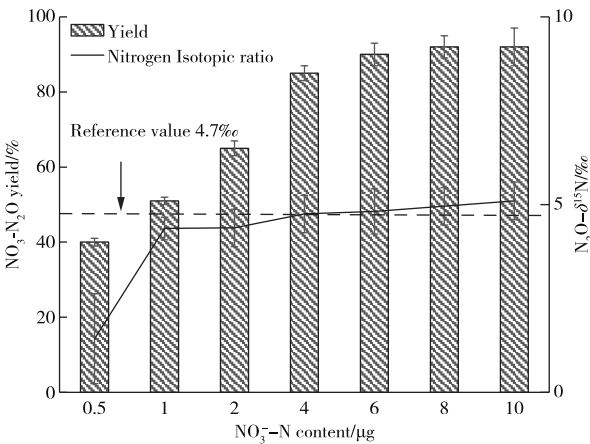


图4 反应体系中NO₃⁻-N含量对硝态氮转化效率及氮同位素比值的影响
Figure 4 Effects of NO₃⁻-N contents on the yield of NO₃⁻-N conversion and N stable isotope ratio.

表4 不同¹⁵N丰度的硝酸钾标准溶液¹⁵N比值测定的精密度和准确度

Standard samples	¹⁵ N test value δ ¹⁵ N _{air} /‰		Reference value	Accuracy
	Average	Standard deviation	δ ¹⁵ N _{air} /‰	δ ¹⁵ N _{air} /‰
USGS32	179.2	0.79	180	0.8
USGS34	-1.57	0.57	-1.8	0.23
Reference samples	¹⁵ N test value ¹⁵ N/atom‰		Reference value	Accuracy
	Average	Standard deviation	¹⁵ N/atom‰	¹⁵ N/atom‰
R ₁	0.96	0.009	0.98	-0.02
R ₂	2.15	0.004	2.13	0.03

Note:Accuracyis the difference between the measured value and the reference value.

表5 两种前处理方法在不同来源水样中硝态氮的¹⁵N丰度测定的精密度和准确度

Sample	Original method δ ¹⁵ N _{air} /‰		Improved method δ ¹⁵ N _{air} /‰	
	Average	Standard deviation	Average	Standard deviation
W ₁	4.52	0.83	4.68	0.32
W ₂	21.20	0.66	21.60	0.23
	Original method ¹⁵ N/atom‰		Improved method ¹⁵ N/atom‰	
	Average	Standard deviation	Average	Standard deviation
L ₁	1.47	0.008	1.49	0.006
L ₂	1.41	0.010	1.42	0.008

3 结论

本研究通过一系列方法验证,改进了冷冻干燥预浓缩结合化学转化N₂O气体的水中硝酸盐氮同位素测定前处理方法。考察了Cu²⁺浓度、反应时间以及超声波功率对硝态氮转化率及氮同位素比值的影响,其中Cu²⁺浓度和超声波辅助均可以显著提高硝态氮转化生成N₂O气体的产率;在单因素实验基础上进行了正交优化实验,当超声波功率大于30 W、

反应时间大于180 min时,NO₃⁻-N₂O转化率可达70%以上,最佳反应体系参数条件为:Cu²⁺含量10 mmol/L、超声波功率30 W、反应时间180 min。在保证理想的测试准确度和精密度条件下,单次反应体系中NO₃⁻-N最低量为1.0 μg。将方法应用于不同来源的水样硝态氮稳定同位素比值测试,均可获得理想的测试精密度,与原“一步法”比较精密度更优,且操作简单,显著提升了前处理效率,能够满足水体硝酸盐污染物来源与污染净化机理等研究

的分析测试需求,为水环境污染的预防、控制与治理提供技术支撑。

参考文献

- [1] 雍亮,王毅博,冯民权. 混合土地利用下长河流域硝酸盐污染源解析[J]. 环境科学学报, 2023, 43(7): 56-69.
YONG Liang, WANG Yibo, FENG Minquan. Analysis of nitrate pollution sources in Changhe river basin under mixed land use [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2023, 43(7): 56-69.
- [2] HERMAWAN O R, HOSONO T, YASUMOTO J, et al. Effective use of farmland soil samples for N and O isotopic source fingerprinting of groundwater nitrate contamination in the subsurface dammed limestone aquifer, Southern Okinawa island, Japan[J]. Journal of Hydrology, 2023, 619. DOI: 10. 1016/j. jhydrol. 2023. 129364.
- [3] 祁芳,刘星,钱群丽,等. 基于稳定同位素的5种蔬菜产地真实性判别[J]. 中国无机分析化学, 2022, 12(1): 171-177.
QI Fang, LIU Xing, QIAN Qunli, et al. Determine the geographic origin authenticity of five vegetables based on IRMS[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2022, 12(1): 171-177.
- [4] 袁红朝,葛体达,陈晓娟,等. 稳定同位素质谱技术在生态系统氮素循环中的应用[J]. 质谱学报, 2015, 36(1): 91-96.
YUAN Hongzhao, GE Tida, CHEN Xiaojuan, et al. Application of stable isotope ratio mass spectrometry in the ecology of nitrogen cycle[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2015, 36(1): 91-96.
- [5] ZARYAB A, NASSERY H, KNOELLER K, et al. Determining nitrate pollution sources in the Kabul Plain aquifer (Afghanistan) using stable isotopes and Bayesian stable isotope mixing model[J]. Science of The Total Environment, 2022, 823. DOI: 10. 1016/j. scitotenv. 2022. 153749.
- [6] JU Y J, KOH D C, MAYER B, et al. Evaluating the sources and fate of nitrate in riparian aquifers under agricultural land using in situ-measured noble gases, stable isotopes, and metabolic genes [J]. Water Research, 2023, 231. 10. 1016/j. watres. 2023. 119601.
- [7] CASCIOTTI K L, SIGMAN D M, HASTINGS M G, et al. Measurement of the oxygen isotopic composition of nitrate in seawater and freshwater using the denitrifier method[J]. Analytical Chemistry, 2002, 74 (19): 4905-4912.
- [8] BOHLKE J K, SMITH R L, JANET E. Hannon Isotopic analysis of n and o in nitrite and nitrate by sequential selective bacterial reduction to N_2O [J]. Analytical Chemistry, 2007, 79(15): 5888-5895.
- [9] STEVENS R J, LAUGHLIN R J. Determining nitrogen-15 in nitrite or nitrate by producing nitrous oxide[J]. Soil Science Society of America Journal, 1994, 58: 1108-1116.
- [10] 袁红朝,贺珍,张丽萍,等. 基于激光光谱分析的一种水中硝酸盐氮同位素比值测定新方法[J]. 同位素, 2022, 35(6): 543-549.
YUAN Hongzhao, HE Zhen, ZHANG Liping, et al. A new method for nitrogen isotopic analysis of nitrate in water by using laser spectrum[J]. Journal of Isotopes, 2022, 35(6): 543-549.
- [11] MCLLVIN M R, ALTABET M A. Chemical conversion of nitrate and nitrite to nitrous oxide for nitrogen and oxygen isotopic analysis in freshwater and seawater[J]. Analytical Chemistry 2005, 77 (17): 5589-5595.
- [12] 杨泉,刘林铭. 测定硝酸盐氮时镉粒预还原条件的改进[J]. 理化检验-化学分册, 2001, 37(11): 497-498.
YANG Quan, LIU Linming. Modification of conditions of reduction with cadmium granules in the determination of nitrate nitrogen[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2001, 37 (11): 497-498.
- [13] 袁红朝,贺珍,张丽萍,等. 土壤铵态氮中氮稳定同位素比值测定前处理方法优化研究[J]. 中国无机分析化学, 2023, 13(2): 129-135.
YUAN Hongzhao, HE Zhen, ZHANG Liping, et al. Optimization of pretreatment methods for nitrogen stable isotope ratio analysis in soil ammonium nitrogen[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2023, 13(2): 129-135.
- [14] 许文林,王雅琼,孙彦平. 超声波在电化学反应过程中的应用[J]. 科技创新与生产力, 1995(4): 6-8.
XU Wenlin, WANG Yaqiong, SUN Yanping. Application of ultrasonic wave in electrochemical reaction[J]. Sci-tech Innovation and Productivity, 1995(4): 6-8.
- [15] 李亚丽,孔令娥,刘蜜,等. 连续流动分析仪测定水溶肥料硝态氮[J]. 中国无机分析化学, 2022, 12(1): 121-126.
LI Yali, KONG Ling'e, LIU Mi, et al. Determination of nitrate concentration in water soluble fertilize by a continuous flow analyzer [J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2022, 12(1): 121-126.