

海水中磷酸盐的检测方法研究进展

Advances in determination of phosphate in seawate

张海云^{1,2}, 张庆³, 韩海涛⁴, 潘大为¹, 秦伟¹

(1. 中国科学院 烟台海岸带研究所, 中国科学院 山东省海岸带环境过程重点实验室, 山东 烟台 264003; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 山东师范大学 化学化工与材料科学学院, 山东 济南 250014; 4. 烟台大学 化学化工学院, 山东烟台 264005)

中图分类号: X834 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)11-0116-10

磷是海洋生态系统中重要的生源要素之一, 它参与或控制了发生在生物圈中的许多生物地球化学循环过程。最近的研究表明, 磷是产生水体富营养化的限制性营养元素之一^[1-4], 当水体中磷含量过高时, 会造成藻类的过度繁殖, 导致产生水体富营养化等生态环境问题, 欧盟立法规定将水体中含有 0.1 mg/L 磷酸盐作为判断环境水体是否暴发蓝藻的指标^[5]。世界上大部分表层海水中磷酸盐的含量很低, 通常在纳摩尔级水平^[6-7], 尽管关于海水中磷酸盐的测定方法报道很多, 但准确快速测定海水中低浓度磷酸盐还存在一些技术难点, 这使得表层海水中低浓度磷酸盐的数据相当缺乏^[10], 而且大多数分析方法只能在实验室完成, 不能满足野外现场测试要求, 更不适用于突发性污染事故的现场监测。近年来, 随着对磷的生物地球化学循环研究的深入, 建立灵敏、简便、快速和适用于船上的工作条件, 特别是能快速测定的现场自动分析仪器和方法成为海洋环境科学研究中的重要内容。

关于磷酸盐分析方法的研究进展已有报道^[8-10], 本文在此基础上简述了海水中磷的存在形态以及包括分子光谱法在内的其他分析方法(质谱法、色谱法、电化学法等)在海水中磷酸盐含量分析方面的应用, 并对磷酸盐的分析方法进行探讨。

1 海水中磷的存在形式

海水中的磷以溶解态和颗粒态形式存在(一般以 0.45 μm 的滤膜过滤分离)^[11]。

溶解态磷包括溶解态无机磷和溶解态有机磷, 前者包括的无机磷形态有正磷酸盐、焦磷酸盐(pyrophosphate)、偏磷酸盐和多磷酸盐, 后者统称

为无机聚磷酸盐。其中, 多磷酸盐是由两个或两个以上的磷酸根基团通过 P—O—P 键结合在一起形成的链状或环状结构, 多磷酸盐仅占海水总磷含量的一小部分, 它们能和多种金属阳离子形成溶解态络合物。缩聚磷酸盐在一定温度和酸性条件下水解成正磷酸盐, 从而能够进行测定。海水中还存在溶解态有机磷化合物(DOP), 在真光层内, DOP 含量可能超过 DIP。研究发现, 某些不稳定的溶解有机磷化合物是海洋循环中十分活跃的组分。

海洋中颗粒态磷包括颗粒态无机磷和颗粒态有机磷。颗粒态无机磷酸盐(PIP)主要以磷酸盐矿物存在于海水悬浮物和海洋沉积物中。其中丰度最大的是磷灰石, 约占地壳总磷量的 95% 以上, 磷灰石是包括人在内的各种生物体的牙齿、骨骼、鳞片等器官的主要成分。海洋中颗粒有机磷化合物(POP)指生物有机体内、有机碎屑中所含的磷, 前者主要存在于海洋生物细胞原生质, 例如, 遗传物质核酸(DNA、RNA)、高能化合物三磷酸腺苷(ATP)、细胞膜的磷脂等等。所有生物细胞中都含有有机磷化合物, 所以, 磷是生物生长不可替代的必需元素^[12]。由于磷的存在形态复杂多样, 到目前为止还没有一个统一的分类标准, 图 1 是根据测定方法提出的一个分类示意图。

收稿日期: 2012-09-20; 修回日期: 2012-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(21007087); 山东省自然科学基金项目(BS2010HZ030); 中国科学院重要方向性项目(KZCX2-YW-JS208)

作者简介: 张海云(1988-), 女, 山东临沂人, 硕士研究生, 研究方向为电化学技术在海洋环境监测中的应用, E-mail: haiyunzhang@yic.ac.cn; 潘大为(1980-), 通信作者, 男, 江西萍乡人, 研究员, 博士, 研究方向为电化学技术在海洋环境监测与治理中的应用, 电话: 0535-2109155, Email: dwpan@yic.ac.cn

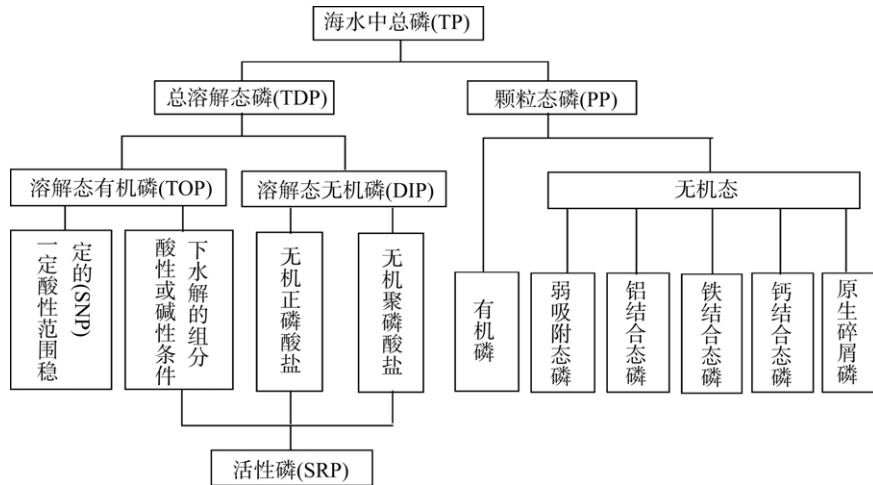


图 1 海水中磷的分类^[8]

2 海水中磷酸盐的测定

天然水体中磷的含量通常很低,在受到人类活动影响较小的部分淡水、湖泊和海洋水域,磷含量低于 0.2 mg/L^[13],不同形态的磷其含量更低。磷的生物效应与其总量无关,而与其形态有着非常密切的关系,其赋存形态及其分析测定对其环境生态效应与生物地球化学作用至关重要。水体中磷的测定通常以能被生物利用的水溶性活性磷的形式测定,即以正磷酸盐的形式存在测定^[14-15]。

2.1 分子光谱法

2.1.1 经典的分光光度法

磷酸盐的经典测定方法是磷钼蓝法,这种方法最早是由 Osmond 提出,但直到最近几十年才被广泛应用^[16]。目前世界上普遍采用的是 1962 年由 Murphy 和 Riley^[17]建立的磷钼蓝分光光度法,由于其应用广泛,1998 年将其定为测定海水中无机磷的国家标准分析方法^[18]。这种方法是在酒石酸锑钾催化作用下,用抗坏血酸或氯化锡将磷钼酸盐还原成磷钼蓝蓝色络合物,在 882 nm 处测定其吸光度。

分光光度法具有仪器简单、实验费用少、精密高等优点,在水环境监测分析领域具有较大的推广应用价值,是目前水环境监测中使用最多的仪器分析方法之一^[19]。但分光光度法也存在一些缺点,如操作步骤冗长、繁琐,耗时又耗化学试剂和样品,不能满足现场快速测定,难以对水体进行实时监测,无法胜任突发性污染事故的现场测定要求,而且基体干扰严重,灵敏度低,不能满足低含量磷酸盐的测定。

2.1.2 改进的分光光度法

海洋环境分析面临的对象是广阔的海域,样品的种类数量很多,如海水、微表层海水、间隙水等,加上海水中有大量盐类存在,不易得到可靠的结果,所以灵敏度足够高的海水磷酸盐直接测定法不多。鉴于此,不少学者对其进行改进以期获得更高的灵敏度和分析时间更短的分析方法,主要从以下三个方面进行改进^[20],表 1 列举了文献报道的用于海水中磷酸盐测定的分光光度法改进技术。

(1) 优化使用的化学物质

Mihajlović 等^[21]建立了一种基于铋磷钼蓝络合物形成的分光光度法,测定天然水和矿泉水中的磷酸盐,线性范围分别为 0~0.6 mg/L 和 0~1.2 mg/L(以 PO_4^{3-} 计),检出限分别为 0.0059 mg/L 和 0.0050 mg/L。Thangavel 等^[22]利用简单、低压、低温的气相分解程序对石英粉试样进行预处理后,采用结晶紫-磷钼酸盐形成离子络合物进行分光光度法分析,得到最佳络合条件为 $[\text{H}^+]=0.42\text{N}$, $[\text{H}^+]/\text{Mo}=62$, 6.7×10^3 倍氟化物, 2.7×10^3 倍硅酸盐和 2.0×10^3 倍砷()不干扰测定,检测限为 0.066 $\mu\text{g/g}$, RSD 为 0.4%~2.3%,摩尔吸光系数是 $2.7 \times 10^5 \text{ L}/(\text{mole} \cdot \text{cm})$ 。

(2) 采用预富集方法,如使用液-液萃取、固相萃取、浊点萃取、悬滴微萃取、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 共沉淀法等。

与传统的分光光度法相比,预富集技术的使用能够大大提高检测的灵敏度,Okumura 等^[23]建立了一种简单、快速的原位预富集方法用于现场测定水体中的磷酸盐,采用固相萃取法将磷酸盐萃取到 Zr-SP 柱上,将磷酸盐保存在这种提取柱中,能够稳定存放至少一个月。这样避免了大容量采样,运输简

单、储存时间长、稳定。改变 pH 可以进行吸附和解吸, 吸附时将水样 pH 调至 2, 水样通过萃取柱收集磷酸盐, 保留的磷酸盐用 0.5 mol/L NaOH 定量解吸, 解吸后的磷酸盐用磷钼蓝分光光度法测定, 富集系数为 500, 检出限达 0.06 $\mu\text{g/L}$, 这种预富集方法成功用于测定微咸湖水中磷酸盐随季节变化的分布行为。Pena-Pereira 等^[24]将悬滴微萃取与微量分光光度法结合建立了一种微型化方法测定水体中的磷酸盐, 十二钼磷酸盐与孔雀石绿形成的离子缔合物被萃取到甲基异丁基酮微滴上, 经过 7.5 min 萃取, 富集因子达 375, 萃取后的离子缔合物直接用分光光度法测定, 检出限为 6.1 nL/mol, 重复测定 6 次的相对标准偏差为 2.7%, 该方法成功用于淡水中溶解性活性磷的测定。尽管预富集技术能有效用于低浓度磷的测定, 但操作步骤繁琐, 且步骤之间的转移过程多, 费时费力, 而且有时需要用到有机溶剂。AAfkhami 等^[25]采用浊点萃取-分光光度法测定水体中的磷酸盐, 在酸性介质中以 Sb(III)作为催化剂, 抗坏血酸作为还原剂, 磷酸盐与钼酸盐形成磷钼蓝, 采用非离子表面活性剂曲拉通 X-114 在溶液中形成的胶束对磷钼蓝进行萃取, 经过优化反应参数和萃取参数, 测得

磷酸盐的最低检出限为 0.5 ng/mL(以 P 计), 线性范围 1.0~125 ng/mL, 富集因子达 20。与传统的液-液萃取过程相比, 浊点萃取无需使用大量的有机溶剂, 易于操作, 商业表面活性剂对环境的影响较小而且成本低, 能够保护被萃取物质的原有特性(如生物大分子的活性), 同时能够提供很高的富集率和提取率, 是一种新型的环境友好的分离技术, 目前已经被广泛地应用于多个领域^[26]。

(3) 使用更灵敏的检测方法, 如使用电化学发光检测法、化学发光检测法、荧光检测法、液芯波导毛细管流通池检测法。

Frank^[27]等采用连续注射分析快速测定沿海水域中的磷酸盐, 磷酸盐与酸性的钼酸根反应形成磷钼酸盐, 然后与罗丹明 6G 反应形成无荧光特性的离子络合物, 剩余的罗丹明 6G 用 470 nm 激发光激发后发射荧光, 发射的荧光波长在 550 nm 处测定, 样品处理个数达到 270 个/h。Tabata 和 Harada^[28]利用磷钼酸盐与水溶性的卟啉阳离子形成的离子缔合物产生很强的拉曼散射光, 在 475 nm 散射强度最大, 据此建立了测定水样中 ppb 级的磷酸盐的光散射法, 测定海水中的磷酸盐回收率达 100%, 这种方法不需

表 1 海水中磷酸盐测定的分光光度法改进技术

检测方法	测定物质	富集/自动化技术	检出限	参考文献
分光光度法	磷钼蓝	磷酸盐富集到 Zr-SP 柱	0.06 $\mu\text{g/L}$	[23]
拉曼散射光谱法	磷钼酸盐-阳离子卟啉	无富集	ppb	[28]
分光光度法	磷钼酸盐-孔雀石绿	硝酸纤维膜过滤滤-甲基纤维素溶解预富集	60ppt	[30]
荧光光谱法	磷钼酸盐-罗丹明 6G	连续进样分析, 无富集	0.05 $\mu\text{mol/L}$	[27]
分光光度法	磷钼蓝	2 m 液芯波导毛细管流通池-间隔连续	0.8 nmol/L	[20]
分光光度法	磷钼蓝	流动分析 2 m 液芯波导毛细管流通池-反相流动注射分析	0.5 nmol/L	[31]
分光光度法	磷钼蓝	氢氧化镁共沉淀法预富集	2.42 nmol/L	[32]
分光光度法	磷钼蓝	氢氧化镁共沉淀法预富集液芯波导毛细管流通池	0.3nmol/L	[33]
化学发光	十二钼磷酸盐-十六烷基三甲基溴化铵	离子缔合物萃取到 C18 硅胶柱-流动注射分析	2 nmol/L	[34]
分光光度法	磷钼蓝-十六烷基三甲基溴化铵	离子缔合物萃取到 C18 硅胶柱-流动注射分析	1.57 nmol/L	[35]
分光光度法	磷钼蓝	HLB 固相萃取	1.4 nmol/L	[36]
分光光度法	孔雀绿-磷钼杂多酸	流动注射分析	0.29 $\mu\text{g/L}$	[37]

预富集处理,简单、灵敏、准确,但空白值高。Gimbert^[29]等采用流动注射-光导纤维分光光度计测定自然水体中低含量磷酸盐,使用长达 1 m 的液芯波导毛细管流通池,测得的检出限为 10 nmol/L,与常规的 1 cm 流通池相比灵敏度提高 100 倍。

(4) 应用流动进样技术以实现分析的自动化

除了上述三方面改进外,不少学者将流动进样技术应用到海水中磷酸盐的测定中。流动进样技术是 20 世纪 50 年代初发展起来的一种比较先进的分析技术,第一个用于实际应用的流动进样技术是间歇流动分析(SFA, 1957),其后又依次发展了流动注射分析(FIA, 1975),连续注射分析(SIA,1991),全进样分析(AIA, 2001),分批进样分析(BIA, 1991),多阀流动注射分析(MCFIA, 2002),多注射器流动注射分析(MSFIA, 2002),多泵流动注射分析(MPFIA, 2002)等^[11]。流动注射分析技术(FIA)由丹麦学者 Ruzicka 和 Hansen 教授于 1975 年在“流动注射分析”论文中首次命名,它是应用非空气间隔断流体系,用注射阀向载液中注入样品或试剂液,在反应不完全(非稳态)情况下即进行测试的一种方法。目前国外 FIA 分析技术发展可以分为四代:流动注射(1 代)、顺序注射(2 代)、微柱注射(3 代)和阀上实验室(4 代)。流动进样技术具有快速进样分析、操作简单、试剂消耗量小、精密度高、可以与多种检测手段相结合等特点,在水质监测中得到了广泛应用^[38]。

Susanto 等^[30]将过滤-溶解预富集方法和流动注射分光光度法结合建立了一种灵敏的分光光度法测定海水中以正磷酸盐形式存在的磷,在酸性介质中正磷酸盐与钼酸根形成磷钼酸盐,然后与阳离子染料孔雀石绿反应形成有色的离子缔合物,经硝酸纤维膜过滤后,滤膜与离子缔合物溶解到甲基纤维素中,用自制的带有自动进样器的流动注射系统在 627 nm 测定其吸光度,线性范围在 0~18 ng/L,检出限为 60×10^{-9} ,测定海水中的磷酸盐回收率在 99.7%~102.9%。Johnson 和 Petty^[39]将流动注射分析技术和磷钼蓝分光光度法相结合测定海水中的可溶性磷酸盐,精密度为 1.5%(3 $\mu\text{mol/L}$,以 PO_4^{3-} 计),检出限为 0.05 $\mu\text{mol/L}$,样品处理量为 90 个/h。Li 等^[40]将反相流动注射分析技术与分光光度法相结合建立了一种简便、灵敏、准确、便携的方法在线测定海水中的痕量磷酸盐,在酸性介质中,磷酸盐与钼酸铵形成磷钼酸,磷钼酸在聚乙二醇存在下与乙基罗丹明 B 反应生成可溶性复合物,在 $\lambda=585$ nm 处测定其吸光

度,方法的检出限为 0.05 $\mu\text{g/L}$ 。Gentle 等^[41]建立了一种全自动便携式流动注射系统原位测定河口和海水中的总磷,设计的系统能够进行快速的水下监测,通过在线产生紫外光并进行热辅助过二硫酸盐消解总磷,矿化的样品溶液经中空纤维过滤器过滤去泡沫后,由蠕动泵输送至试剂注射流动分析仪,在酸性介质中与钼酸盐、二氯化锡反应生成磷钼蓝有色物质,使用多级反射池和低功率发光二极管检测器测其吸光度,该系统每小时可进行 115 次测定,线性范围 0~200 $\mu\text{g/L}$ ($r^2 = 0.9998$),检出限为 1 $\mu\text{g/L}$ (以 P 计),建立的系统具有以下特点:试剂稳定、仪器简便、低能耗、高通量样品分析、样品处理简单、灵敏、准确,可用于船上现场测量,方便快捷。但由于需使用过二硫酸盐和硫酸混合试剂,系统只能维持 96 h,而且高浓度的酸造成数据丢失。

2.2 质谱法

随着科学技术的发展,从 20 世纪 60 年代以来质谱法已实现了与不同的分离仪器的联用,不仅用于有机化合物分子结构的测定,而且可以对无机、生物大分子以及复杂混合物的各组分进行定性和定量分析。Yang 等^[42]通过离子排斥色谱与电感耦合等离子体质谱法相结合在线测定海水中的可溶性磷酸盐,6 min 内完成整个测量过程,检出限低为 0.06 $\mu\text{mol/L}$ (以 P 计),测定的海水中磷酸盐浓度为 (1.69 ± 0.04) $\mu\text{mol/L}$,这种方法具有快速、简单、准确、无需样品预处理、样品用量少等特点。但是 MS 在实际应用中的主要缺点是仪器昂贵,仪器运转维持费用高。

2.3 色谱法

色谱技术对复杂混合物具有强大的分离分析功能,它是基于混合物中各组分对两相亲和力的差别进行分离的。当两相做相对移动时,各物质在两相之间进行反复多次的分配平衡,从而使各组分得到分离。色谱法具有分离效率高,分析速度快,应用范围广,样品用量少而且灵敏度高,分离和测定一次完成,易于自动化等优点,将其应用到海水中磷酸盐的测定能够有效的减少干扰物质的影响。

2.3.1 离子色谱法

离子色谱自 20 世纪 70 年代问世以来发展很快。80 年代前离子色谱仅限于用离子交换分离和电导检测,分析简单的阴、阳离子,目前发展成为多种分离方法和检测方法。离子色谱法可测定各类水质(饮用

水、地下水、工业废水、生活污水和海水)样品中各种无机阴、阳离子和有机酸,美国环保局将其定为实时跟踪监测饮用水中阴离子的方法^[43]。Bruno等^[44]采用预分离柱(Dionex AG9-HC 4 mm)和分析柱(Dionex AS9-HC 4 mm)柱切换离子色谱法测定高盐度海水中的磷酸盐,用电导检测法和紫外检测法测定,检出限为1 000 $\mu\text{g/L}$,线性范围在1~60 mg/L。Carrozzino等^[45]采用配有抑制柱和电导检测器的离子色谱对取自四种不同区域的40种海水样品中的营养盐进行测定,这种方法不需样品预处理,大大简化分析步骤,测定结果表明即使样品中的溴离子浓度高达70mg/L时硝酸盐仍是可检测的,但磷酸盐浓度低于检出限无法测定。为此Dahlrf等^[46]通过部分分析因实验设计优化了离子色谱法测定海水中硝酸盐和磷酸盐的条件,获得了较低的检出限,硝酸盐和磷酸盐的检出限分别为0.5 $\mu\text{mol/L}$ 和1 $\mu\text{mol/L}$ 。de Medina等^[47]在高浓度硫酸盐存在下用离子色谱法测定河口和咸水湖中的磷酸盐,以铅离子选择性电极为工作电极,采用电位滴定法使硫酸盐形成硫酸铅沉淀,过滤后用离子色谱法测定磷酸盐,测得的检出限达1 $\mu\text{g/L}$ 。林红梅等^[48]采用在线样品除氯技术,结合OnGuard Ba柱去除硫酸盐,建立了离子色谱直接测定海水中亚硝酸盐、硝酸盐和磷酸盐的方法。该方法以IonPac AG23为富集柱,大容量IonPac AS23为分离柱,淋洗液自动发生装置在线产生KOH溶液进行梯度淋洗,抑制电导检测。实验结果表明:样品稀释5~10倍时,直接进样不会干扰目标物测定。当流速为1 mL/min、进样量为500 μL 时,海水中 NO_2^- -N、 NO_3^- -N、 PO_4^{3-} -P的方法检出限分别为0.3、0.4、0.2 $\mu\text{g/L}$,线性范围分别为10~500、14~680、3.4~170 $\mu\text{g/L}$,线性相关系数 r 均大于0.999 0。测得人工海水样品中目标物的加标回收率为92%~106%,相对标准偏差(RSD, $n=6$)为1.2%~7.7%。该方法一次进样可在13 min内完成分析,具有操作简单快捷、无污染等优点,能满足近海海水中 NO_2^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 的定量分析要求。

离子色谱法具有分析速度快,可同时测定多种阴离子的特点,但是受海水中基底背景值高的限制,测定时需稀释降低背景值浓度,这样样品的浓度也相应降低而使其灵敏度低,因此还不能直接准确测定海水中低含量磷酸盐的要求。

2.3.2 离子对液相色谱法

离子对液相色谱是一种分离分析离子性溶质的

色谱方法。通过在流动相中加入一种与溶质离子带相反电荷的离子对试剂使之与溶质离子形成离子对,有利于在非极性固定相中保留。离子对色谱既可以分离阳离子,也可以分离阴离子^[49],在环境与农业样品分析方面非常有用。Yokoyama等^[50]建立了一种高灵敏的离子对液相色谱法测定环境水体(自来水、河水、海水、井水、温泉水、商品化矿泉水、实验用水)中的可溶性磷酸盐和硅酸盐,通过柱前衍生反应形成黄色的杂多钼酸盐,大大提高检测灵敏度,测得的硅酸盐和磷酸盐的检出限分别为0.007 mg/L(SiO_2)和0.003 mg/L(PO_4^{3-}),线性范围分别为0.007~10 mg/L(SiO_2)和0.003~20 mg/L(PO_4^{3-}),所得结果与传统的分光光度法相吻合。

2.3.3 离子排阻色谱

离子排阻色谱能够有效的分离各种环境水体和工业用水中的阴、阳离子,能同时测定水体中的磷酸盐和硅酸盐,Nobutake等^[51]采用离子排阻色谱同时测定河水中的磷酸盐和硅酸盐,以抗坏血酸作为洗脱液和还原剂,钼酸盐作为显色剂,水样经分离后通过柱后显色反应后用分光光度法测定,磷酸盐和硅酸盐的检出限分别为0.9 mg/L和1.0 mg/L,这种方法可以有效的应用到对水质检测中。同年Nobutake等^[52]对离子排阻色谱-分光光度法同时测定河水中的磷酸盐和硅酸盐进行改进,以钼酸盐-孔雀石绿作为显色剂,通过优化钼酸盐和孔雀石绿的比例以及 H_2SO_4 、 Na_2MoO_4 、孔雀石绿、乙醇的用量,测得的磷酸盐和硅酸盐的检出限分别为0.3 $\mu\text{g/L}$ 和2.5 $\mu\text{g/L}$ 。

尽管衍生化可以提高灵敏度的紫外检测器或荧光检测器,但其缺点是衍生化步骤繁琐、实验结果影响因素较多和重现性差。因此,非衍生化色谱法,即在色谱分离后直接进行检测的分析方法,近年来是色谱法测定磷酸盐的发展方向。

2.3.4 毛细管电泳

Takaaki等^[53]以瞬间等速电泳作为在线预富集方法,采用低电渗流毛细管区带电泳-间接紫外检测海水中的磷酸盐,对分析条件进行优化,确定最佳测定条件;背景电解质包括5 mmol/L 2,6-吡啶二羧酸和0.01%羟丙基甲基纤维素,并用1 mol/L NaOH调节到pH=3.5;检测波长为200 nm;样品真空注射时间为1 s(21 nL);尾随离子为500 mmol/L 2-(N-吗啉)乙磺酸,并用1 mol/L NaOH调节至pH=4.0;尾随离子溶液真空注射时间为30 s(630 nL);施加的电压是

15 kV(以样品进样口作为阴极), 测样时间大约 15 min, 最低检出限 $32 \mu\text{g/L}$ ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$), 峰高、峰面积、迁移时间的相对标准偏差分别为 2.1%、2.3%、0.81%, 建立的方法实际应用于表层海水样品中。Takaaki 等^[54]对上述方法进行改进, 将样品真空注射时间改为 3 s (45 nL), 尾随离子溶液真空注射时间变为 30 s(450 nL), 两端施加电压变为 30 kV, 实验结果表明: 磷酸盐的检出限为 $16 \mu\text{g/L}$ ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$), 峰高、峰面积、迁移时间的相对标准偏差分别为 2.6%、2.3%、0.34%, 建立的这种方法比上一种方法检出限降低一倍, 将这种方法应用到 MOOS-1 认证的海水参考样品测定中, 所得结果与认证值相似。该方法实际应用到海岸带海水样品中磷酸盐测定, 所得结果与传统的分光光度法一致。尽管毛细管电泳-间接紫外检测法简单, 但是灵敏度低。HimenoSadayuki 等^[55]建立了一种毛细管电泳-直接紫外检测方法同时测定自来水中的磷酸盐、磷酸盐、二磷酸盐, 将三种物质的混合液加入到含有 3.0 mmol/L Mo(VI) 和 0.05 mol/L 丙二酸盐缓冲液 (pH 3.0)的毛细管中, 形成相应的聚钼酸盐络合物, 根据络合物的迁移速率不同得到分离测定, 各自的线性范围是: 对于磷酸盐为 $2.0 \times 10^{-6} \sim 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ($r = 0.9994$), 对于磷酸盐为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 5.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ ($r = 0.9991$), 对于二磷酸盐为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ($r = 0.9995$), 磷酸盐的检出限是 $1 \times 10^{-6} \text{ L/mol}$, 磷酸盐和二磷酸盐的检出限同是 $5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$, 与间接紫外法相比灵敏度提高了 10 倍。

2.4 电化学法

海洋环境研究的发展趋势是现场获取数据, 以避免长途运输和长期储存带来的样品沾污和变质等问题, 电化学分析法仪器简单, 操作简易快速, 便于与自动化技术联用实现在线分析和生产自动控制, 易于微型化具有选择性好、灵敏度高、响应快及测量范围宽等特点, 测定不受试液颜色、浊度等的影响, 而且受硅酸盐、砷酸盐等离子干扰小, 在高盐度水体中不受 Schlieren 光分散行为的干扰, 特别适于水质连续自动监测和现场快速分析, 因此受到广泛关注。

用电化学分析法测定磷酸盐已有不少文献报道, 所使用的电极有碳糊电极、铂棒电极、玻碳电极、PVC 膜电极、非均相膜电极、铅离子选择性电极以及生物传感器等, 其中碳糊电极和化学修饰电极因其容易制备、再生, 响应信号稳定, 欧姆电阻低在阴离子、阳离子、有机和药物分子测定中受到广泛应

用^[56]。碳糊电极不仅可以用于电位法也用于安培法测定, 主要基于以下原理^[57] (1) 十二钼磷酸盐还原成磷钼蓝; (2) 磷钼蓝氧化, 即先用电化学的方法还原, 然后吸附到电极上进行氧化; (3) 磷钼钒在电极上发生还原; (4) 磷酸铁发生还原反应。

2.4.1 电位法

电位法仪器装置简单, 响应快, 便于现场检测, 已成为环境分析研究的热点。EjhiehAlirezaNezamadeh 和 MasoudipourNeda^[56]用表面活性剂(十六烷基三甲基溴化铵)改性沸石微粒修饰碳糊电极, 采用电位法测定, 线性范围在 $1.58 \times 10^{-5} \sim 1.00 \times 10^{-2} \text{ L/mol}$, 检出限为 $1.28 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, 能斯特响应斜率为 $(29.9 \pm 0.9) \text{ mV}$, 这种电极不仅用于直接电位法, 还可以进行电位滴定法的测定, 但这种方法还未能实际应用于海水中的磷酸盐测定。

2.4.2 安培法

目前, 在检测水体中磷酸盐的化学传感器技术应用中, 关于安培法的研究很多。Quintana 等^[58]以碳糊电极为指示电极, 采用安培法与分批进样分析技术测定了海水中的正磷酸盐, 当在碳糊电极上施加 0.3 V 工作电压时, 酸性介质中磷酸盐与钼酸铵反应生成的磷钼酸盐化合物发生还原。这种方法具有装置简单、试剂用量少、检出限低($0.3 \mu\text{mol/L}$)、线性范围宽($1 \sim 20 \mu\text{mol/L}$)、能够彻底消除硅酸盐的干扰等特点。Udnan 等^[57]建立了一种在线预富集-流动注射安培法测定淡水和海水中的可溶性活性磷, 可溶性活性磷在酸性介质中与钼酸盐反应生成磷钼酸盐, 当在玻碳电极上施加 220 mV 时, 磷钼酸盐发生还原, 不进行预富集处理时, 测得检出限为 $3.4 \mu\text{g/L}$, 正磷酸盐浓度分别为 $50 \mu\text{g/L}$ 和 $500 \mu\text{g/L}$ 时(以 P 计), 相对标准偏差为 5.2%和 5.9%, 当用离子交换柱预富集 2 min 后, 获得的检出限降低为 $0.18 \mu\text{g/L}$ (以 P 计), 正磷酸盐浓度分别为 $0.1 \mu\text{g/L}$ 和 $1 \mu\text{g/L}$ 时(以 P 计), 相对标准偏差分别为 22%和 1.0%。Xue 等^[59]发现磷钼杂多酸与质子化的丁基罗丹明 B 反应生成疏水性的离子缔合物, 可以被选择性的萃取到苯修饰的碳糊电极上, 而且为丁基罗丹明 B 的电化学反应提供了一个微环境, 当在碳糊电极上施加 1.3 V 电压时, 丁基罗丹明 B 产生很强的电化学发光信号, 线性范围在 $2.0 \times 10^{-10} \sim 1.0 \times 10^{-8} \text{ g/mL}$, 检出限为 $8.0 \times 10^{-11} \text{ g/mL}$ 。Mohammad 等^[60]采用 He-Cd 双波长激光器作为热源, 以碳纤维增强碳电极为工作电极, 建立了测定自然水体中磷酸盐的热调制伏安法。在酸性介质中, 磷酸

盐与钼酸盐形成磷钼杂多酸离子,在流通式电解池中进行电还原,伏安图上出现的两个峰分别对应磷钼杂多酸离子两次连续的得电子反应,实验结果表明:峰强度与磷酸盐浓度成线性,检出限为 0.8 nmol/L,由于碳纤维增强碳电极对磷钼杂多酸离子具有强烈的吸附,灵敏度大大提高,但电极更新麻烦,将这种方法应用于自然水体中磷酸盐测定所得结果与传统的分光光度法相吻合。最近,Jonca 等^[61]用自制的电解池建立了一种自动原位测定海水中正磷酸盐的电化学传感器,在人工海水中对磷钼酸盐络合物的形成条件进行优化,钼在阳极氧化产生钼酸根离子和质子,用安培法测定磷酸盐与钼酸根产生的磷钼酸盐络合物,检出限为 0.12 $\mu\text{mol/L}$,精密密度为 2.2%,这种方法避免了外来试剂的加入,并消除了硅酸盐的干扰。Moss 等^[62]开发了一种磷酸盐传感器—纳米孔水氧化铁电极,并利用循环伏安法和电化学阻抗谱对两种不同条件下制备的水氧化铁电极进行评价,结果表明 300 $^{\circ}\text{C}$ 烧铸形成的无定形氧化铁电极在低 pH 时(pH=4)测其循环伏安图,还原峰电流与磷酸盐浓度有关,线性拟合范围在 10^{-9}mol/L 至 10^{-3}mol/L ,但是阴极峰电流响应信号值随着循环次数的增加明显降低,所以当使用循环伏安法清除电极表面残余杂质时会由于涂覆层的腐蚀而无法精确测量。而 400 $^{\circ}\text{C}$ 烧铸形成的 α -氧化铁电极在多种 pH 下(pH =4 或 pH=7)测定阻抗谱都能给出可靠的数据,线性拟合范围为 $10^{-9}\sim 10^{-4}\text{mol/L}$,建立的系统有望用于磷酸盐检测,但仍需要进一步确定自然体系中包括 HCO_3^- 在内的其他阴离子的干扰。

海洋环境研究的发展趋势是现场获取数据,以避免长途运输和长期储存带来的样品沾污和变质等问题,电化学方法易于与流动分析技术联用更好地应用于连续自动监测系统,适于进行在线连续,实时环境检测,最大限度地避免由于样品采集和长途运输造成的污染和样品形态的改变,并将成为快速检测海水中磷酸盐等营养盐的有效手段。

3 结语

综述了海水中磷酸盐的存在形态及各种检测技术。传统的分光光度法测定结果准确可靠,被定为测定海水中无机磷的国标方法,但操作步骤较繁琐,试剂需现用现配,并需绘制校准曲线,工作量大,耗时又耗化学试剂和样品,而且水样中浊度和色度将直接影响测量的吸光度值,干扰因素较多,不能满

足快速、简便的现场测试要求。质谱法虽快速、简单、准确,但仪器设备运行费用高,要求高真空环境,也难以实现现场测定。离子色谱法能够进行多组分同时测定,是分析水体中无机阴离子的首选方法,现已发展到测定多种无机和有机阴阳离子,但受海水基底背景的干扰严重,需要进行前处理。电化学法不受水体浊度和色度的影响,易于微型化,便于携带,适于与自动化技术结合起来,构造成集成便携式的综合测量体系,有望实现连续自动测定和快速测定。

参考文献:

- [1] Han C, Gu X, Geng J, et al. Production and emission of phosphine gas from wetland ecosystems[J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(9): 1309-1311.
- [2] Geng J, Niu X, Wang X, et al. The presence of trace phosphine in Lake Taihu water[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2010, 90(9): 737-746.
- [3] Feng Z, Song X, Yu Z. Distribution characteristics of matrix-bound phosphine along the coast of China and possible environmental controls[J]. Chemosphere, 2008, 73(4): 519-525.
- [4] Feng Z, Song X, Yu Z. Seasonal and spatial distribution of matrix-bound phosphine and its relationship with the environment in the Changjiang River Estuary, China[J]. Marine Pollution Bulletin, 2008, 56(9): 1630-1636.
- [5] Hanrahan G, Gledhill M, Fletcher P J, et al. High temporal resolution field monitoring of phosphate in the River Frome using flow injection with diode array detection[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 440(1): 55-62.
- [6] Wu J. Phosphate depletion in the western north atlantic ocean[J]. Science, 2000, 289(5480): 759-762.
- [7] Björkman K, Thomson-Bulldis A L, Karl D M. Phosphorus dynamics in the North Pacific subtropical gyre[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2000, 22(2): 185-198.
- [8] 赵颖翡, 刘素美, 张经. 海水中磷化合物的分析进展[J]. 海洋环境科学, 2005, 24(2): 70-74.
- [9] 谢永洪, 张新申, 杨坪, 等. 分光光度法测定磷酸盐的研究进展[J]. 皮革科学与工程, 2009, 19(2): 35-46.
- [10] 袁东星, 梁英. 海洋环境中痕量活性磷分析技术的研究进展[J]. 环境化学, 2006, 25(3): 252-256.

- [11] Estela J M, Cerda V. Flow analysis techniques for phosphorus: an overview[J]. *Talanta*, 2005, 66(2): 307-331.
- [12] 冯士箎, 李凤岐, 李少菁. 海洋科学导论[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 133-142.
- [13] Farías L, Graco M, Ulloa O. Temporal variability of nitrogen cycling in continental-shelf sediments of the upwelling ecosystem off central Chile[J]. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2004, 51(20-21): 2491-2505.
- [14] Riley J P, Skirrow G. *Chemical Oceanography*[M]. New York: Academic Press, 1975.
- [15] Mckelvie I D, Peat D M W, Worsfold P J. Techniques for the quantification and speciation of phosphorus in natural waters [J]. *Analytical Proceedings Includings Analytical Communications*, 1995, 32(10): 437-445.
- [16] Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M. *Methods of Seawater Analysis*[M]. Third Edition. Weinheim [u.a.] : Wiley-VCH, 1999.
- [17] Murphy J, Riley J P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1962, 27: 31-36.
- [18] GB 17378.4-1998 海洋监测规范 第 4 部分: 海水分析. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [19] 李青山, 李怡庭. 水环境监测实用手册[M]. 北京: 中国水利水电出版社, 2003.
- [20] Patey, M D, Rijkenberg, M J A, Statham, P J, et al. Determination of nitrate and phosphate in seawater at nano-molar concentrations[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27(2): 169-182.
- [21] Mihajlović R P, Kaljević V M, Vukašinić M P, et al. Spectrophotometric method for the determination of phosphorus in natural waters using the bismuthphosphomolybdate complex[J]. *Water SA*, 2007, 33(4): 513-517.
- [22] Thangavel S, Dash K, Chaurasia S C. A simple vapour phase decomposition (VPD) of quartz powder in a polypropylene vessel and determination of phosphorus by spectrophotometry[J]. *Talanta*, 2001, 55(3): 501-507.
- [23] Okumura M, Tong L, Fujinaga K, et al. A simple and rapid in situ preconcentration method for the determination of phosphate in environmental waters by use of solid-phase extraction, and its applications to brackish lake waters[J]. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 2001, 370(1): 104-107.
- [24] Pena-Pereira F, Cabaleiro N, de la Calle I, et al. Directly suspended droplet microextraction in combination with microvolume UV-vis spectrophotometry for determination of phosphate[J]. *Talanta*, 2011, 85(2): 1100-1104.
- [25] Afkhami A, Norooz-Asl R. Cloud point extraction for the spectrophotometric determination of phosphorus(V) in water samples[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 167(1-3): 752-755.
- [26] 张桂平, 秦炜, 戴猷元. 浊点萃取及其应用[J]. *中国科技论文在线*, 2007, 2(12): 897-901.
- [27] Frank C, Schroeder F, Ebinghaus R, et al. Using sequential injection analysis for fast determination of phosphate in coastal waters[J]. *Talanta*, 2006, 70(3): 513-517.
- [28] Tabata M, Harada K. Light scattering method for the determination of trace amounts of phosphate using a cationic water-soluble porphyrin[J]. *Analyst*, 1992, 117(7): 1185-1188.
- [29] Gimbert L J, Haygarth P M, Worsfold P J. Determination of nanomolar concentrations of phosphate in natural waters using flow injection with a long path length liquid waveguide capillary cell and solid-state spectrophotometric detection[J]. *Talanta*, 2007, 71(4): 1624-1628.
- [30] Susanto J P, Oshima M, Motomizu S, et al. Determination of micro amounts of phosphorus with Malachite Green using a filtration-dissolution preconcentration method and flow injection-spectrophotometric detection [J]. *Analyst*, 1995, 120(1): 187-191.
- [31] Ma J, Yuan D, Zhang M, et al. Reverse flow injection analysis of nanomolar soluble reactive phosphorus in seawater with a long path length liquid waveguide capillary cell and spectrophotometric detection[J]. *Talanta*, 2009, 78(1): 315-320.
- [32] 徐燕青, 高生泉, 陈建芳, 等. 氢氧化镁共沉淀法测定海水中纳摩尔级活性磷酸[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2011, 39(1): 133-136.

- [33] 朱赖民, 李犇. 海水中超低含量活性磷酸盐的 $Mg(OH)_2$ 共沉淀法测定研究[J]. 海洋学报, 2008, 30(3): 148-152.
- [34] Liang Y, Yuan D, Li Q, et al. Flow injection analysis of ultratrace orthophosphate in seawater with solid-phase enrichment and luminol chemiluminescence detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 571(2): 184-190.
- [35] Liang Y, Yuan D X, Li Q L, et al. Flow injection analysis of nanomolar level orthophosphate in seawater with solid phase enrichment and colorimetric detection[J]. *Marine Chemistry*, 2007, 103(1-2): 122-130.
- [36] Ma J, Yuan D, Liang Y. Sequential injection analysis of nanomolar soluble reactive phosphorus in seawater with HLB solid phase extraction[J]. *Marine Chemistry*, 2008, 111(3-4): 151-159.
- [37] 佟玲, 张新申, 陈伟, 等. 海水中磷酸盐的在线快速检测[J]. *海洋环境科学*, 2009. 28(1): 76-79.
- [38] 吕清, 张敏, 金民, 等. 水质总磷的测定流动注射分析分光光度法(征求意见稿). 2010.
- [39] Johnson K S, Petty R L. Determination of phosphate in seawater by flow injection analysis with injection of reagent[J]. *Analytical Chemistry*, 1982, 54(7): 1185-1187.
- [40] Hui L, Zhang X S, Yu L Y. The determination of phosphate in seawater by reverse flow injection spectrophotometry[J]. *Reviews in Analytical Chemistry*, 2012, 31(2): 99-105.
- [41] Gentle B, Ellis P S, Faber P A, et al. A compact portable flow analysis system for the rapid determination of total phosphorus in estuarine and marine waters[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 674(2): 117-122.
- [42] Yang L, Sturgeon R E, Lam J W H. On-line determination of dissolved phosphate in sea-water by ion-exclusion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2001, 16(11): 1302-1306.
- [43] Pfaff J D. Determination of Inorganic Anions by Ion Chromatography. Method 300.0, U.S.Environmental Protection Agency, Cincinnati, OHIO, 1993.
- [44] Bruno P, Caselli M, de Gennaro G, et al. Determination of nutrients in the presence of high chloride concentrations by column-switching ion chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1003(1-2): 133-141.
- [45] Carrozzino S, Righini F. Ion chromatographic determination of nutrients in sea water[J]. *Journal of Chromatography A*, 1995, 706(2): 277-280.
- [46] Dahllrf I, Svensson O, Torstensson C. Optimising the determination of nitrate and phosphate in sea water with ion chromatography using experimental design[J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, 771(1-2): 163-168.
- [47] deMedina H L, Gutierrez E, deVargas M C, et al. Determination of phosphate and sulphite in natural waters in the presence of high sulphate concentrations by ion chromatography under isocratic conditions[J]. *Journal of Chromatography A*, 1996, 739(1-2): 207-215.
- [48] 林红梅, 林奇, 张远辉, 等. 在线样品前处理大体积进样离子色谱法直接测定海水中亚硝酸盐、硝酸盐和磷酸盐[J]. *色谱*, 2012, 30(4): 374-377.
- [49] 武汉大学. 分析化学 [M]. 5 版. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [50] Yokoyama Y, Danno T, Haginoya M. Simultaneous determination of silicate and phosphate in environmental waters using pre-column derivatization ion-pair liquid chromatography[J]. *Talanta*, 2009, 79(2): 308-313.
- [51] Nobutake N, Wakako M, Daisuke K, et al. Simultaneous spectrophotometric determination of orthophosphate and silicate ions in river water using ion-exclusion Chromatography with an Ascorbate Solution as Both eluent and reducing agent, followed by postcolumn derivatization with molybdate[J]. *Analytical Sciences*, 2009, 25(3): 379-383.
- [52] Nobutake N, Wakako M, Daisuke K, et al. Simultaneous determination of orthophosphate and silicate ions in river water by ion-exclusion chromatography with postcolumn spectrophotometric detection using molybdate and malachite green[J]. *Bunseki Kagaku*, 2009, 58(4): 305-309.
- [53] Okamoto T, Fukushi K, Yokota K, et al. Determination of phosphate in seawater by transient isotachopheresis/capillary zone electrophoresis with suppressed electroosmotic flow[J]. *Bunseki Kagaku*, 2006, 55(9): 627-634.
- [54] Takaaki O, Keiichi F, Sahori T, et al. Determination of

- phosphate in seawater by CZE with online transient ITP[J]. *Electrophoresis*, 2007, 28(19): 3447-3452.
- [55] Himeno S, Inazuma N, Kitano E. Simultaneous determination of phosphonate, phosphate, and diphosphate by capillary electrophoresis using in-capillary complexation with Mo(VI)[J]. *Journal of Separation Science*, 2007, 30(7): 1077-1081.
- [56] Ejhieh A N, Masoudipour N. Application of a new potentiometric method for determination of phosphate based on a surfactant-modified zeolite carbon-paste electrode (SMZ-CPE)[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 658(1): 68-74.
- [57] Udnan Y, McKelvie I D, Grace M R, et al. Evaluation of on-line preconcentration and flow-injection amperometry for phosphate determination in fresh and marine waters[J]. *Talanta*, 2005, 66(2): 461-466.
- [58] Quintana J C, Idrissi L, Palleschi G, et al. Investigation of amperometric detection of phosphate Application in seawater and cyanobacterial biofilm samples [J]. *Talanta*, 2004, 63(3): 567-574.
- [59] Xue Y, Zheng X, Li G. Determination of phosphate in water by means of a new electrochemiluminescence technique based on the combination of liquid-liquid extraction with benzene-modified carbon paste electrode[J]. *Talanta*, 2007, 72(2): 450-456.
- [60] Shariar S M, Suga M, Nishikawa Y, et al. Laser-heating thermal modulation voltammetric determination of phosphate ion using a graphite-reinforced carbon electrode[J]. *Analytical Sciences*, 2009, 25(4): 499-503.
- [61] Jońca J, Fernández V L, Thouron D, et al. Phosphate determination in seawater: toward an autonomous electrochemical method[J]. *Talanta*, 2011, 87: 161-167.
- [62] Moss R E, Jackowski J J, Castilho M D, et al. Development and evaluation of a nanoporous iron (hydr) oxide electrode for phosphate sensing[J]. *Electroanalysis*, 2011, 23(7): 1718-1725.

(本文编辑: 康亦兼)