

非抑制电导检测离子色谱法测定 硅藻培养液中硅酸根

李月, 刘晃*

(农业部渔业装备与工程技术重点实验室 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 上海 200092)

摘要: 采用戴安阴离子 AS23 (4 mm × 250 mm) 分析柱和 AG23 (4 mm × 50 mm) 保护柱、恒温电导检测器, 建立了测定硅藻培养液中硅酸根 (SiO_3^{2-}) 含量的非抑制电导检测离子色谱法。以 4 mmol/L 碳酸钠为淋洗液, 淋洗液流速 1.0 mL/min, 进样体积 100 μL , 采用峰高定量。该法测定 SiO_3^{2-} 的线性范围为 0~40 mg/L, 检出限为 0.017 mg/L, 重复测定同一标样的相对标准偏差 (RSD, $n=7$) 小于 5%, 峰面积和峰高的 RSD 分别为 10.9%、4.8%。测定不同生长时期硅藻培养液中的 SiO_3^{2-} , 样品的加标回收率为 102%~120%。该法灵敏、准确、简便易行, 适用于硅藻培养液中 SiO_3^{2-} 的检测。

关键词: 离子色谱法; 非抑制电导检测; 硅酸根; 硅藻

中图分类号: O657.75; O741.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2012)01-0066-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2012.01.012

Determination of Silicate in *Cyclotella Meneghiniana Kiits* Solution Using Non-suppressed Conductance Detection Ion Chromatography

LI Yue, LIU Huang*

(Key Laboratory of Fishery Equipment and Engineering, Ministry of Agriculture, Fishery Machinery and Instrument Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200092, China)

Abstract: A novel method was developed for the determination of SiO_3^{2-} in *Cyclotella meneghiniana Kiits* solution by non-suppressed conductance detection ion chromatography. The chromatography was performed on a Dionex anion AS23 (4 mm × 250 mm) analytical column and AG23 (4 mm × 50 mm) guard column with a constant temperature conductance detector. The experimental conditions were optimized, and the optimal chromatographic conditions were using 4 mmol/L sodium carbonate as eluent with a eluent speed of 1.0 mL/min, injection sample volume of 100 μL . The calibration curve of silicate was linear in the range of 0-40 mg/L. The detection limit was 0.017 mg/L. The relative standard deviation (RSD, $n=7$) for standard solution was lower than 5%. The RSDs for peak area and peak height measurements were 10.9% and 4.8%, respectively. The proposed method was applied in the determination of silicate in *Cyclotella meneghiniana Kiits* solution in different growing periods, and the spiked recoveries were in the range of 102% - 120%. With the advantages of simplicity, good sensitivity, low cost, the method was suitable for the determination of silicate in *cyclotella meneghiniana kiits* solution.

Key words: ion chromatography; non-suppressed conductance detection; silicate; diatom

硅藻为养殖水体中常见的优势藻种, 可作为对虾、中华绒螯蟹幼体的饵料藻^[1-2]。硅在水体中存在的无机形式硅酸根 (SiO_3^{2-}) 是硅藻生长必需的营养元素, 可作为细胞壁结构成分, 参与光合色素合成、蛋白质合成、DNA 合成和细胞分裂等多种代谢生长过程。因此准确分析硅藻养殖水体中的硅元素含量, 可以更好地研究硅元素对硅藻生长的影响。

常见 SiO_3^{2-} 分析仪的测定原理为在一定酸度下水中的 SiO_3^{2-} 与钼酸铵反应生成硅钼黄, 然后在还原剂作用下还原成硅钼蓝, 产生的硅钼蓝具有一定的吸光度, 其吸光度大小与水样中的 SiO_3^{2-} 含量成

收稿日期: 2011-08-10; 修回日期: 2011-09-14

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2011BAD13B04); 农业部“引进国际先进农业科学技术”自由申报项目(2010-S9)

* 通讯作者: 刘晃, 硕士, 副研究员, 研究方向: 水产养殖工程, Tel: 021-65977260, E-mail: liuhuag@fmiri.ac.cn

正比,根据吸光度可间接计算 SiO_3^{2-} 含量^[3-5]。其他的 SiO_3^{2-} 分析方法有氢氟酸转化分光光度法^[6]、重量法^[7]。但这些方法存在操作繁琐、消耗试剂量大、污染环境等缺点。离子色谱(IC)法是一种新型的高效液相色谱技术,具有灵敏度高、选择性好、进样体积小和易实现自动化等优点,已在环境、食品、化工等领域得到了广泛应用^[8-11],是分析阴离子的首选方法。常用于测定 SiO_3^{2-} 的离子色谱法有离子排斥色谱加柱后衍生紫外检测法或化学发光检测法^[12-14],这类方法存在对离子色谱仪器硬件要求高等缺陷。非抑制电导检测离子色谱法装置简单,无需配置淋洗液自动发生装置,经济实惠,分析快速。本文应用非抑制电导检测离子色谱法测定硅藻培养液中的 SiO_3^{2-} 含量,并对淋洗液的种类、浓度、流速及样品的进样量进行了优化。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Dionex ICS1500 离子色谱仪,电导检测器,Chromeleon 6.80 色谱工作站。硅酸钠标准品(Na_2SiO_3 , Merck 公司)为优级纯,密度为 1.35 g/cm^3 ($20 \text{ }^\circ\text{C}$)。碳酸钠(国药集团沃凯产品)、碳酸氢钠(Sigma 公司)为分析纯。实验用水由 Elga 公司 R7/15 型纯水机制备(电阻率为 $18.3 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)。0.45 μm 混合纤维素酯滤膜,25 mm 可更换膜过滤器。PP 材料容量瓶、PP 材料烧杯(德国 Vitlab 公司)。

1.2 离子色谱条件

色谱柱为戴安 AS23 阴离子分析柱($4 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$)及 AG23 保护柱($4 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$);柱温为: $30 \text{ }^\circ\text{C}$,电导检测器温度为: $35 \text{ }^\circ\text{C}$;淋洗液由人工配制。

1.3 标准溶液与淋洗液的配制

SiO_3^{2-} 储备液的制备:准确移取 1.45 mL Na_2SiO_3 标准品溶液于 250 mL 容量瓶中,用纯水定容,制得 1 g/L 的储备液(以 SiO_2 计),保存于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中。 SiO_3^{2-} 标准液的制备:分别移取 0.05、0.1、0.5、1、1.5、2 mL SiO_3^{2-} 储备液于 50 mL 容量瓶中,用纯水定容配得 1、2、10、20、30、40 mg/L 的标准溶液,用于制作标准曲线。

淋洗液的配制:根据实验需要,先配制高浓度的储备液,再准确移取一定体积的储备液并稀释至所需浓度。

1.4 硅藻的培养与取样

本文硅藻选择梅尼小环藻,梅尼小环藻(*Cyclotella meneghiniana* Kiits)隶属于硅藻门(*Bacillariophyta*)中心硅藻纲(*Centricae*)盘状硅藻目(*Discoidales*)圆筛藻科(*Coscinodiscaceae*)小环藻属(*Cyclotella*),藻种由中国科学院水生生物研究所提供。藻的培养过程:将装有梅尼小环藻液(加有 D1 培养基)的三角锥形瓶置于光照培养箱内,光照强度为 2 000 勒克斯(lx),12 h 光照;12 h 黑暗,温度为 $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$,每天定时充分摇动培养瓶 4 次。藻液从 15 mL 扩培至 300 mL 后取样测定。取样时采用注射器移取 5 mL 藻液,藻液通过可更换膜过滤器过滤。滤液经显微镜镜检无梅尼小环藻存在,说明该过滤方式能完全去除水体中的梅尼小环藻,适于离子色谱进样。

2 结果与讨论

2.1 色谱图产生负峰的原因

离子色谱法检测 SiO_3^{2-} 的原理为:由于 SiO_3^{2-} 溶于水,在碱性条件下带负电,具有阴离子交换特征。按照常规阴离子程序测定 SiO_3^{2-} ,得到的 SiO_3^{2-} 峰和水峰均为负峰,其色谱图见图 1a。该负峰是由于电导检测器检测的是溶液中所有阴阳离子的电导总和,并以淋洗液的电导率作为色谱基线零点。由于 SiO_3^{2-} 及水的电导率远小于淋洗液 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 的电导率,因此出现负峰。在 Chromeleon 6.80 色谱工作站中将信号因子由 1 改为 -1 后,可使 SiO_3^{2-} 的信号峰从负峰变成正峰,色谱图见图 1b。从图中可看出,改变信号因子后, SiO_3^{2-} 峰和水峰从负峰变成正峰,其峰形大小不变,未受信号因子更改的影响。

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 淋洗液浓度的影响 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 和 KOH 均为离子色谱分析阴离子时常用的淋洗液。人工配制 KOH 淋洗液容易吸收空气中的二氧化碳，引入淋洗液浓度误差，所以使用 KOH 淋洗液需要专门的淋洗液发生器。而以 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 溶液作为淋洗液，则不会引起 CO_2 浓度改变，无需专门的淋洗液发生器，降低了检测成本。因此本文选用 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 两种淋洗液进行考察，分别以 4 mmol/L Na_2CO_3 (pH 10.62) 为淋洗液 A，以 4.5 mmol/L 的 Na_2CO_3 - 0.8 mmol/L NaHCO_3 混合溶液 (pH 10.44) 为淋洗液 B，在 1.0 mL/min 流速，100 μL 进样量条件下，考察了 20 mg/L SiO_3^{2-} 标准溶液的色谱图。两种淋洗液条件下 SiO_3^{2-} 的保留时间均在 4 min 附近，与文献[13]相近。由于 H_2SiO_3 的 $\text{p}K_{a1} = 9.77$ ，即在 $\text{pH} > 9.77$ 的溶液中硅化合物表现为 SiO_3^{2-} ，因此，当淋洗液的 pH 值越大，溶液中 SiO_3^{2-} 浓度越高，产生的电导信号越强，越有利于 SiO_3^{2-} 出峰。两种淋洗液的数据表明，由于淋洗液 A 的 pH 值略大于淋洗液 B，使用淋洗液 A 时的基线信号比较低，其水峰的峰面积及峰高也比使用淋洗液 B 低约 30%。由于水峰和 SiO_3^{2-} 峰的保留时间相近 (见图 1)，水峰的峰高或峰面积越小，则对 SiO_3^{2-} 峰的干扰越小，越有利于样品出峰。综上，淋洗液选择 4 mmol/L 的 Na_2CO_3 溶液。

2.2.2 进样体积的影响 以 4 mmol/L 的 Na_2CO_3 溶液为淋洗液，淋洗流速为 1.0 mL/min，考察了进样体积分别为 25、100、200 μL 时对 20 mg/L SiO_3^{2-} 标准溶液峰高的影响。结果表明，较大的进样体积有利于增大样品峰高，提高检测灵敏度，当进样体积从 25 μL 增至 100 μL 时，20 mg/L SiO_3^{2-} 标准溶液的出峰时间从 3.98 min 增至 4.25 min，峰高从 2.82 剧增至 12.96；但水峰的峰面积同时也从 114.92 升至 372.89。考虑到继续增大进样体积将导致水峰峰面积的急剧增大，从而可能干扰复杂、低浓度样品的 SiO_3^{2-} 峰形，而 100 μL 进样体积时的水峰峰面积、峰高较为适中，适合分析低含量 SiO_3^{2-} ，因此本实验选择最佳进样体积为 100 μL 。

2.2.3 淋洗液流速的影响 以 4 mmol/L 的 Na_2CO_3 溶液为淋洗液，进样体积为 100 μL ，考察了淋洗流速分别为 0.8、1.0、1.2 mL/min 时 20 mg/L SiO_3^{2-} 标准溶液的峰高和柱压。结果表明，以上 3 种流速对应的柱压分别为 1 091、1 361、1 625 psi，保留时间分别为 5.09、4.02、3.22 min，峰高为 2.17 ~ 2.83。3 种流速对应的峰高较接近，保留时间和柱压差异明显。由于 1.0 mL/min 流速时对应的柱压比较适中，且仪器本身要求的最佳流速也为 1.0 mL/min，因此本实验选择离子色谱的最佳流速为 1.0 mL/min。

2.3 方法的重现性、线性相关性及检出限

在上述优化条件下，对 20 mg/L 的 SiO_3^{2-} 标准溶液连续测定 7 次，结果如表 1 所示。 SiO_3^{2-} 的重现性良好，保留时间均为 4.03 min，峰面积、峰高对应的相对标准偏差分别为 10.9%、4.8%，其峰高的相对标准偏差较低。

以 0~40 mg/L 的 7 个标准溶液做标准曲线，峰高及峰面积的标准方程分别为： $y_1 = 2.77x_1 - 1.33$ ， $r^2 = 0.99$ ； $y_2 = 13.16x_2 - 0.74$ ， $r^2 = 0.98$ 。其中， y 为 SiO_3^{2-} 的质量浓度 (mg/L)， x 为 SiO_3^{2-} 的峰面积。其峰高的 r^2 略高于峰面积的 r^2 。参照表 1 数据，按照色谱分析理论，低浓度样品以峰高作为定量依据时，其误差会小于峰面积对应的误差，因此本实验选用峰高作为定量依据。测得空白溶液的数据点平均值为 0.013 (扣除 SiO_3^{2-} 出峰位置的数据点)，根据 3 倍于基线噪音计算 SiO_3^{2-} 的检出限 ($S/N = 3$) 为

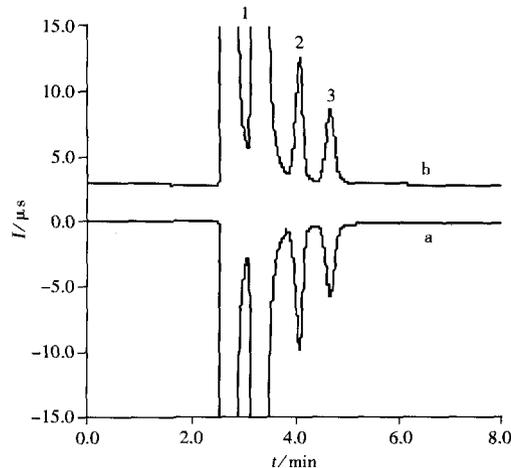


图1 信号因子更改前(a)后(b)20 mg/L SiO_3^{2-} 标样的离子色谱图

Fig. 1 Chromatograms of 20 mg/L SiO_3^{2-} standard solution before (a) and after (b) signal factor changing
1. H_2O , 2. SiO_3^{2-} , 3. unknown

0.017 mg/L。

表1 方法的重复性
Table 1 Repeatability of the method

No.	Retention time t/min	Peak area	Peak height	Result $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	
1	4.03	1.66	8.21	21.76	
2	4.03	1.60	8.12	21.49	
3	4.03	1.65	8.33	22.06	
4	4.03	1.32	7.63	20.19	
5	4.03	1.32	7.65	20.26	
6	4.03	1.71	8.61	22.80	
7	4.03	1.68	8.54	22.62	
Average value \pm standard deviation		4.03 \pm 0.00	1.56 \pm 0.17	8.15 \pm 0.39	21.59 \pm 1.04
RSD $s_r/\%$		0.0%	10.9%	4.8%	4.8%

2.4 实际样品测试

在梅尼小环藻的不同生长时期, 于藻培养液中取样, 用显微镜镜检藻细胞密度, 在优化条件下测定过滤后藻液中 SiO_3^{2-} 的含量, 并向每个样品中分别加入等体积的 5、10、20 mg/L 标样, 各平行测定 3 次(结果见表 2)。从表 2 中看出, 随着梅尼小环藻细胞密度的增加, 培养液中的 SiO_3^{2-} 含量呈明显下降趋势。该方法测定藻液样品的 RSD 为 0.11%~0.70%, 回收率为 102%~120%。15 mg/L 标样、培养液及加标后的色谱图见图 2, 样品的峰形对称良好。梅尼小环藻 D1 培养液中含有硝酸根、磷酸根、硫酸根等多种阴离子, 基体复杂, 常规方法检测 SiO_3^{2-} 易受到其他离子的影响, 而本文建立的非抑制电导检测离子色谱法中, 硝酸根、磷酸根、硫酸根的保留时间分别为 13.35、18.22、20.72 min, 能够准确测定硅藻培养液中 SiO_3^{2-} 的含量。

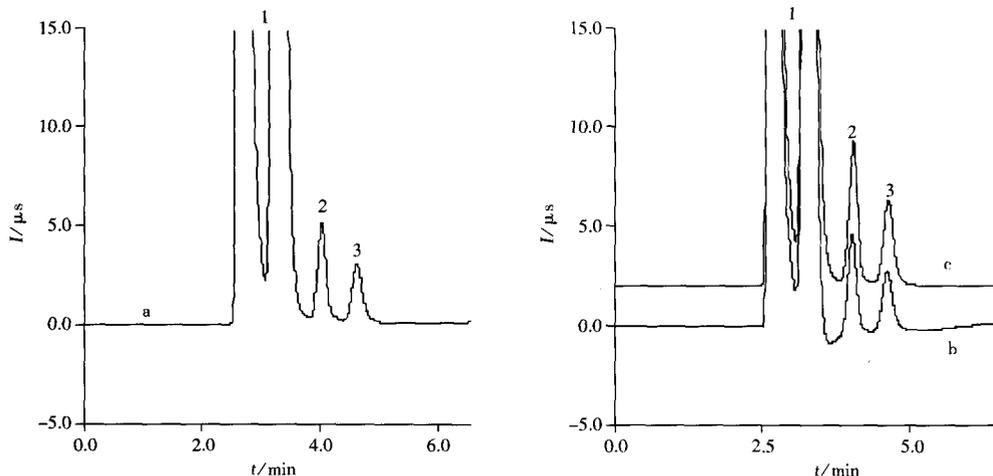


图2 SiO_3^{2-} 标准溶液、梅尼小环藻培养液及加标后的离子色谱图

Fig. 2 Chromatograms of 15 mg/L SiO_3^{2-} standard, *Cyclotella meneghiniana* Kütz solution and spiked solution

1. H_2O , 2. SiO_3^{2-} , 3. unknown; a. 15 mg/L SiO_3^{2-} standard, b. *Cyclotella meneghiniana* Kütz solution, c. spiked *Cyclotella meneghiniana* Kütz solution

表2 梅尼小环藻培养液中 SiO_3^{2-} 的测定结果及回收率

Table 2 Determination results of silicate in *Cyclotella sp.* nutrient solution and its recoveries

Growing period/day	Density/ (cell/mL)	Original $\rho/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD $s_r/\%$	Added $\rho/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Found $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	RSD $s_r/\%$	Recovery $R/\%$
3	5.4×10^4	14.20 ± 0.09	0.63	5, 10, 20	10.63 ± 0.06 , 13.72 ± 0.09 , 19.79 ± 0.12	0.56, 0.66, 0.45	111, 113, 116
7	1.92×10^5	12.41 ± 0.12	0.97	5, 10, 20	8.86 ± 0.04 , 11.78 ± 0.04 , 17.30 ± 0.07	0.45, 0.34, 0.40	102, 105, 107
9	3.2×10^5	9.11 ± 0.05	0.55	5, 10, 20	7.93 ± 0.01 , 11.39 ± 0.08 , 17.47 ± 0.02	0.12, 0.70, 0.11	112, 119, 120
11	4.52×10^5	6.14 ± 0.07	1.14	5, 10, 20	6.31 ± 0.03 , 9.24 ± 0.06 , 15.10 ± 0.10	0.48, 0.65, 0.66	113, 114, 115

3 结 论

本文建立了硅藻培养液中 SiO_3^{2-} 的离子色谱分析方法, 在最优色谱条件下, 该方法测 SiO_3^{2-} 的检出限为 0.017 mg/L , RSD 小于 5%, 加标回收率为 102%~120%。硅藻样品的前处理简单, 使用可更换膜过滤器过滤 5 mL 藻液能满足多次测定。该方法选用常见的 Na_2CO_3 作为淋洗液, 无需昂贵复杂的淋洗液自动发生器和其他试剂, 对环境友好, 具有测定快速、线性范围宽、线性关系良好、测定准确等优点, 是一种经济实惠的分析 SiO_3^{2-} 的离子色谱分析技术。

参考文献:

- [1] Huang X H, Wang Q H. *J. Trop. Oceanogr.* (黄翔鹤, 王庆恒. 热带海洋学报), **2002**, 21(4): 36-44.
- [2] Yang H M, Yin S W, Wu Z H, Li J P. *J. Nat. Sci. Hunan Normal Univ.* (杨海明, 尹绍武, 吴朝晖, 李建平. 湖南师范大学: 自然科学学报), **1997**, 20(3): 56-61.
- [3] Wang P H, Wang X L. *Large Scale Nitrogenous Fertilizer Industry* (王培红, 王晓黎. 大氮肥), **2009**, 32(3): 171-172.
- [4] Luo L H, Li M. *Guizhou Chem. Ind.* (罗利红, 李鸣. 贵州化工), **2008**, 33(6): 29-31.
- [5] Wang P H. *Henan Chem. Ind.* (王培红. 河南化工), **2009**, 26: 48-49.
- [6] Chow D T W, Robinson R. *Anal. Chem.*, **1953**, 25: 646-648.
- [7] Isshiki K, Sohrin Y. *Mar. Chem.*, **1991**, 32: 1-8.
- [8] Yang L, Hou Y, Wang B X, Yang S H, Zhou Y, Yang Y, Yang Y, Liu J. *J. Instrum. Anal.* (杨蕾, 侯英, 王保兴, 杨式华, 缙悦, 杨燕, 杨勇, 刘静. 分析测试学报), **2010**, 29(2): 165-170.
- [9] Zhou S, Gao W, Yu H. *J. Instrum. Anal.* (周爽, 高微, 于泓. 分析测试学报), **2009**, 28(11): 1279-1282.
- [10] Li H Y. *J. Instrum. Anal.* (李红艳. 分析测试学报), **2010**, 29(8): 859-863.
- [11] Cheng P, Gu H Y, Liu W X. *Chin. J. Anal. Lab.* (成霏, 顾慧莹, 刘温喜. 分析实验室), **2009**, 28(Suppl): 127-129.
- [12] Liu X, Cai Y Q, Liu J S, Mou S F. *J. Water Purif. Technol.* (刘肖, 蔡亚岐, 刘京生, 牟世芬. 净水技术), **2006**, 25(6): 69-71.
- [13] Nobutake N, Daisuke K, Wakako M, Nobukazu N, Kiyoshi H, Masanobu M, Kazuhiko T. *Anal. Chim. Acta*, **2008**, 619: 110-114.
- [14] Hiroyuki S, Terufumi F, Takahiro K. *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 302: 173-177.