

基于微流控和比色光谱法的水产养殖海水氨氮含量检测

时家辉^{1,2} 于亚光^{1,2} 杨 普^{1,2} 董 峰^{1,2} 孙 明^{1,2}

(1. 中国农业大学信息与电气工程学院, 北京 100083; 2. 国家数字渔业创新中心, 北京 100083)

摘要: 为实时、准确地获取水产养殖海水中氨氮含量,以大围网养殖海水中的氨氮为研究对象,在比色光谱法基础上结合微流控技术进行靛酚蓝法比色反应,实现对溶液中氨氮含量的定量检测。建立数据处理后相应的模型,并且对比了不同光谱预处理和不同样本集划分算法对建立预测模型的影响,其中多元散色校正(MSC)后再使用小波平滑的预处理方法结合排序法划分样本集建立的偏最小二乘(PLS)回归模型效果最优,建模集校正标准差(RMSEC)和预测集校正标准差(RMSEP)分别为0.056 6 mg/L和0.067 7 mg/L,相对分析误差(RPD)为6.893 2;在优化条件下测得方法的线性范围和检测限分别为0.005 ~ 1.350 mg/L和0.003 6 mg/L。对海水、自来水和养殖水体进行加标回收实验,平均回收率在94% ~ 109%之间,相对标准偏差在2.3% ~ 5.8%之间。结果表明,实验建模效果良好,操作简单、方便,实验快速、可靠、无污染,表明利用比色光谱法结合微流控技术检测氨氮方法可行。

关键词: 水产养殖; 氨氮; 微流控; 比色法; 预测模型; 光谱分析

中图分类号: S959; S912 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2020)S1-0397-08

Detection of Ammonia Nitrogen in Seawater in Aquaculture Based on Microfluidics and Colorimetric Spectroscopy

SHI Jiahui^{1,2} YU Yaguang^{1,2} YANG Pu^{1,2} DONG Feng^{1,2} SUN Ming^{1,2}

(1. College of Information and Electrical Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. China National Innovation Center for Digital Fishery, Beijing 100083, China)

Abstract: To obtain real-time and accurate ammonia nitrogen content in aquaculture seawater, taking ammonia nitrogen as the research object, the colorimetric reaction of indophenol blue method was carried out on the basis of colorimetric spectroscopy combined with microfluidic technology to realize the quantitative detection of ammonia nitrogen in solution. After processing the data, a corresponding model was established and the effects of different spectral preprocessing and different sample set partitioning algorithms on the establishment of the detection model were compared, in which after the multiplication scatter correction, the partial least squares (PLS) regression model established by the wavelet smoothing preprocessing method combined with the sorting method to divide the sample set had the best effect. The root mean standard error of calibration (RMSEC) and the root mean standard error of prediction (RMSEP) were respectively 0.056 6 mg/L and 0.067 7 mg/L, the relative analytical error (RPD) was 6.893 2; the linear range and detection limit of the method measured under optimized conditions were 0.005 ~ 1.350 mg/L and 0.003 6 mg/L, respectively. The standard recovery experiment was carried out on seawater, tap water and aquaculture water bodies. The average recovery rate was between 94% and 109%, and the relative standard deviation was between 2.3% and 5.8%. The results showed that the experimental modeling effect was good, the operation was simple and convenient, and the experiment was fast, reliable, and pollution-free. It showed that the method of detecting ammonia nitrogen using colorimetric spectroscopy combined with microfluidic technology was feasible.

Key words: aquaculture; ammonia nitrogen; microfluidics; colorimetry; predictive model; spectral analysis

收稿日期: 2020-08-10 修回日期: 2020-09-20

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0901700)

作者简介: 时家辉(1997—),男,硕士生,主要从事水产养殖快速检测技术研究,E-mail: sjh97profession@163.com

通信作者: 孙明(1963—),男,副教授,博士生导师,主要从事水产养殖质量安全检测技术研究,E-mail: sunming@cau.edu.cn

0 引言

实时、准确获取海水氨氮($\text{NH}_3\text{-N}$)含量对海洋渔业、养殖业、海洋灾害预警和海洋资源保护具有重要意义。氨氮是水中游离氨(NH_3)和离子氨(NH_4^+)的统称^[1],水体 pH 值控制着两者的含量变化,当 pH 值低于 8.75 时,离子氨含量较多,而当 pH 值高于 8.75 时,主要以游离氨形式存在^[2]。养殖水体中氨氮质量浓度应维持在 0.20 mg/L 以下才能保证养殖水生生物健康成长,确保最终的水产品产量与品质;而当质量浓度大于 2.00 mg/L 时,水生生物就会出现中毒症状,甚至大量死亡^[3-4]。因此,为了实现水资源的循环利用,防止水生生物受到氨氮的影响,对海洋系统中氨氮加以检测和监测十分重要。

近几年,国内外科研人员都在研究更快更灵敏的氨氮含量检测方法,包括分光光度法^[5]、荧光光谱法^[6-10]、化学发光法^[11]、电化学法^[12]、离子色谱法^[13]等,其中分光光度法和荧光光谱法可用于检测淡水和海水中的氨氮,而电化学法和离子色谱法不受溶液色度的影响,多用于检测污水中的氨氮。分光光度法是多种方法的统称,其中最经典的方法是纳氏试剂分光光度法,也是国家标准检测方法。

纳氏试剂分光光度法是在碱性环境下,氨氮与二氯化汞-碘化钾-氢氧化钾溶液反应生成棕色络合物,其吸光度与溶液氨氮浓度呈线性关系。该方法操作简单,反应灵敏,但是容易受到水中杂质的影响,不适用于浑浊水样,同时所用试剂中碘化汞具有毒性,不利于现场检测。文献[14]使用该方法对水中氨氮进行了测定,发现显色时间在 10~30 min 内测量效果最优,40 min 后溶液开始褪色并会导致吸光度降低,适宜的显色温度在 20~25℃ 之间,溶液显色 pH 值以 11.8~12.4 为佳。文献[15]研究了该方法测定氨氮得到的标准曲线的线性关系,得出标准曲线质量浓度范围为 0~6.8 mg/L。文献[16]设计了一个即时检测系统,实现了对水质氨氮的在线检测,能够实现数据的存储和历史记录查询功能。采用 PLS 回归分析建立了模型,测量结果与真实值基本吻合,对水质中、高浓度的氨氮检测更为精确。

靛酚蓝分光光度法(以下简称靛酚蓝法)属于分光光度法的范畴。该方法主要基于贝特洛(Berthelot)反应,其中氨氮与次氯酸盐反应生成一氯胺,然后在亚硝基铁氰化钠的催化作用下与酚类化合物反应,在碱性条件下生成靛酚蓝。靛酚蓝作为染料得到广泛应用,其溶于水后可形成颜色稳定的溶液。靛酚蓝法在测量氨氮时不涉及有毒重金属试剂,具有对环境二次污染较小、测量灵敏度高等

特点。目前,很多在线氨氮监测仪器采用靛酚蓝法^[17]。

近年来,研究人员在单个微流控芯片上进行的分离和分析等研究加速了微流控芯片技术的发展^[18-20]。通过微通道连接各个腔室,使反应、检测等操作都在一个芯片上实现,并在整个过程中实现可控,在微流控芯片上实现很多功能。而且微流控需要的试剂很少,使用成本低,检测效率高,容易制备成便携式装置。

本文以大围网养殖海水中的氨氮为研究对象,以微流控技术、分光光度法、化学计量学为理论基础,建立海水中氨氮快速比色光谱检测方法,并分析影响检测结果的因素,开发多通道微流控芯片,以期实现高灵敏度、高选择性的快速氨氮检测。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

利用岛津 UV-2450 型紫外可见分光光度计对目标溶液进行连续波长下的吸光度检测。该仪器波长范围 190~1100 nm,分辨率 0.1 nm,在室温下即可测定。使用便携式 V-1300 型光度计进行对比检测,该仪器采用只有一个光束的光路系统,当设定某一波长时,光度计持续不断地发出该波长下的光束,只需将比色皿置入检测处便能即时得到该波长下的吸光度。

1.2 实验材料

实验所使用的化学试剂包括氯化铵、柠檬酸三钠、邻苯苯酚、二氯异氰尿酸钠、亚硝基铁氰化钠、氢氧化钠、去离子水。实验仪器包括烧杯、电子秤、容量瓶、离心管、pH 计等。

1.3 微流控芯片设计

微流控芯片是在微米级的空间内对流体进行操控的产品,使用硅、玻璃或者高分子聚合材料在几平方厘米基底上构建微流通道,把加入试剂、稀释、混合、反应和分离等功能集成在一块芯片上^[21-22]。微流通道有多种类型,如 Y 型、分流合并型、圆形空腔型等,具有对流型通道的混合效果均优于直线型的通道。本实验需要在通道内实现化学试剂的混合,完成显色反应,在设计芯片时需考虑制作成本和实际情况。由于芯片通道为微米级,液体在这种状态下雷诺数较小,称为层流状态,液体之间仅能依靠分子扩散进行混合,混合效果不好。为了使液体间混合均匀,可提高雷诺数,将层流状态转变为湍流状态,实现快速均匀混合。本实验设计的微流控芯片在第 1 个入口处将液体分流,使其在第 2 个入口处下方的十字口与其他液体混合流入主通道,可将层

流状态转变成湍流状态,增大了雷诺数。主通道为波浪型可使混合距离变长而且存在多个弯道,产生的涡流运动能有效促进混合,且易于制作。因此主通道设计为波浪型,入口为分流合并型,载玻片长为 7.5 cm,微流通道整体长度为 4.0 cm,波浪型通道用 5 个直径为 0.2 cm 的半圆组成,通道截面为矩形,其中宽为 0.1 mm,深为 0.05 mm,整体如图 1 所示。

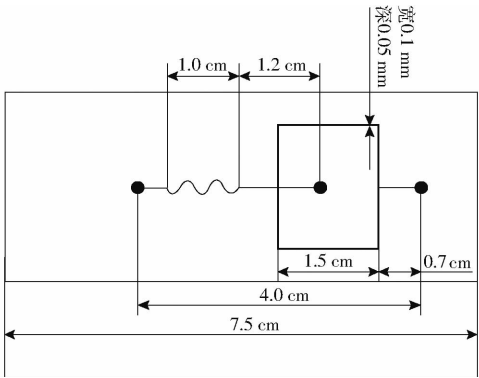


图 1 微流控芯片尺寸图
Fig. 1 Microfluidic chip size diagram

1.4 微流控芯片制作

微流控芯片通道加工方法主要有热压法、注塑法、模塑法和 3D 打印法等。热压法是加热状态下给模具施加一定的压力使热塑性塑料精确成型的方法;注塑法是利用光制作技术加工出微注塑模具,用注塑机将聚二甲基硅氧烷(PDMS)注入模具,固化后与玻璃片封装的方法;模塑法是通过超声显影技术得到所需通道部分的模具,再在模具上浇注 PDMS 得到微流控芯片。传统的制作芯片的方法往往成本和技术要求高,工艺复杂,3D 打印技术的发展使微流控芯片的制作简易化、个性化,而且能够实现复杂的三维结构。3D 打印法制作微流控芯片分为直接法和间接法,直接法是打印出微通道结构的芯片基底后打孔封装即完成芯片制作。考虑到模具可以重复使用,采用间接法先打印模具,然后将二甲基硅氧烷和硬化剂按比例混合均匀,注入模具,在烤箱中烘烤使二甲基硅氧烷硬化形成 PDMS,再与载玻片键合,制作完成后的实物如图 2 所示。

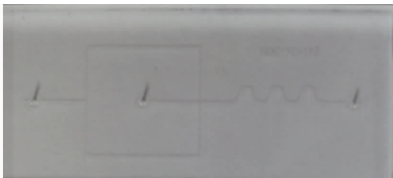


图 2 微流控芯片实物图

Fig. 2 Physical image of microfluidic chip

1.5 实验步骤

在室温条件下进行实验,具体步骤如下:

(1)在离心管中加入一定量的氯化铵标准溶液

并定容至 20 mL,配制成 0 mg/L 和 0.002 ~ 1.5 mg/L 共65 组梯度溶液。

(2)分别加入 4 mL 柠檬酸盐溶液(0.5 g/L)、1 mL 邻苯苯酚溶液(20 g/L)、1 mL 二氯异氰尿酸钠溶液(10 g/L),每次加入溶液前都需要摇匀混合。

(3)将混合液注入连接微流控芯片入口的注射器中,亚硝基铁氰化钠溶液(5 g/L)注入连接微流控芯片另一入口的注射器中,用注射泵以 5:1 的速度注入芯片,收集出口处的溶液,如图 3 所示。

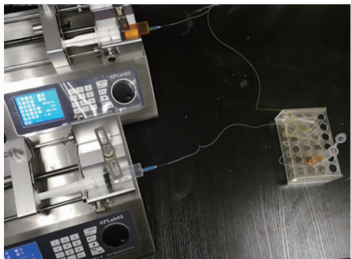


图 3 微流控芯片实验

Fig. 3 Microfluidic chip experiment

(4)取适量溶液于 1 cm 比色皿中,在岛津 UV-2450 型紫外可见分光光度计上采集 400 ~ 900 nm 的光谱数据,得到原始光谱见图 4。

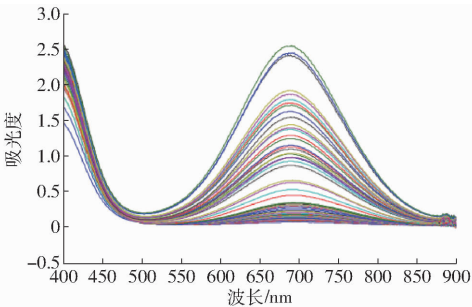


图 4 样品原始光谱

Fig. 4 Original spectrum of sample

2 结果与分析

2.1 实验条件优化

影响氨氮检测的因素有体系 pH 值、盐度、温度及其他金属离子等。通过优化以上因素得到最佳实验条件方案。

2.1.1 pH 值

在整个反应过程中 pH 值影响着显色速率、生成物的稳定性和最大吸收波长的位置,在合适的 pH 值范围内,靛酚蓝比色反应才会充分进行,因此控制反应的 pH 值十分重要。

配制 8 组 0.6 mg/L 氨氮标准溶液和 10 mol/L NaOH 溶液,通过向氨氮标准溶液中滴加不同量的 NaOH 溶液调节体系的 pH 值,使其分别为 8.41、9.02、9.96、10.34、10.89、11.21、11.58、11.97,反应后使用便携式 V-1300 型分光光度计测量吸光度。

如图 5 所示,反应体系初始 pH 值为碱性,由此可知在添加试剂时已经在溶液中同时加入了 NaOH 溶液,说明靛酚蓝比色反应需在碱性条件下发生。当体系 pH 值逐渐增大时溶液的吸光度逐渐减小,NaOH 的加入会影响试剂的反应,为达到较优的测量结果,无需向反应体系中再加入 NaOH 试剂。

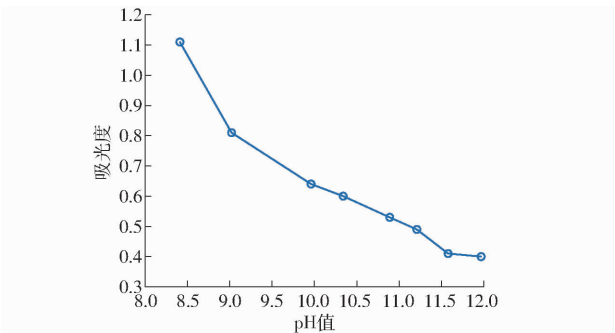


图 5 吸光度与靛酚蓝法体系 pH 值之间的关系
Fig. 5 Relationship between absorbance and pH value of indophenol blue method

2.1.2 盐度

为了探究盐度对显色反应的影响,用去离子水配制盐度为 0、1.0%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5% 的人工海水,用盐度不同的人工海水配制氨氮标准溶液,每一个盐度下的氨氮质量浓度分别为 0、0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 mg/L,共 36 组溶液。加入所需的试剂,待其充分反应后使用便携式 V-1300 型分光光度计测量吸光度。

表 1 为不同盐度下得到的氨氮工作曲线参数,由表 1 可知,当盐度逐渐增大时,工作曲线的斜率并未发生明显的变化,截距逐渐增大。

表 1 靛酚蓝法在不同盐度下工作曲线参数
Tab.1 Working curve parameters of indophenol blue method at different salinities

盐度/%	斜率	截距	R ²
0	1.655 4	0.156 8	0.958 8
1.0	1.672 1	0.187 5	0.963 4
2.0	1.657 9	0.191 1	0.972 7
2.5	1.666 6	0.194 2	0.932 7
3.0	1.677 2	0.216 8	0.924 5
3.5	1.667 3	0.227 2	0.923 9

斜率不随盐度变化而变化,斜率整体走势趋于平稳。说明盐度对靛酚蓝法没有太大的干扰,靛酚蓝法可用于检测海水中的氨氮。

2.1.3 温度

温度使分子间碰撞频率提高从而影响着化学反应,在一定的温度范围内,反应温度越高,显色速率越快。但温度高于一定值时,也可能在高温碱性条件下引起氨的挥发。本实验为研究温度对反应体系

的影响,在测量仪器可提供的温度范围内,选择反应在 12℃、25℃(室温)、35℃ 3 组温度下进行。

配制质量浓度为 0.6 mg/L 的氨氮标准溶液,移取 20 mL 置于离心管中,依次加入试剂,混合后水浴加热控制温度在 12、25、35℃,前 10 min 每 2 min 取反应液于比色皿中测量其在 694 nm 处的吸光度,10 min 后每 5 min 测量一次,测得吸光度随时间变化的数据,绘制 3 条不同温度下的时间曲线。

如图 6 所示,温度不同反应速率也不相同,15 min 前在同一时间点,反应时环境的温度越高,化学反应的速率越快,在 20 min 后反应逐渐趋于平稳,温度并未改变溶液的吸光度。实验结果表明,由于靛酚蓝法显色反应较快,温度并未大程度加快反应速度,所以拟在室温下反应 20 min 后开始测量吸光度。

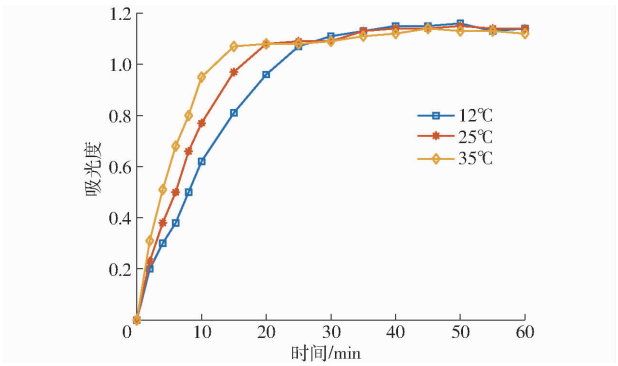


图 6 温度对靛酚蓝法检测效果的影响
Fig. 6 Influence of temperature on detection effect of indophenol blue method

2.1.4 其他金属离子

选择常见的金属离子如 Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、K⁺、Cu²⁺、Zn²⁺、Al³⁺、Pb²⁺、Mn²⁺,取适量的 9 种金属离子分别加入到氨氮标准溶液中并加入反应所需试剂,反应后进行检测,加入到溶液中的金属离子的质量浓度为氨氮质量浓度的 100 倍,结果如图 7 所示。加入 Ca²⁺ 和 Mg²⁺ 后的吸光度有所下降,可能因为

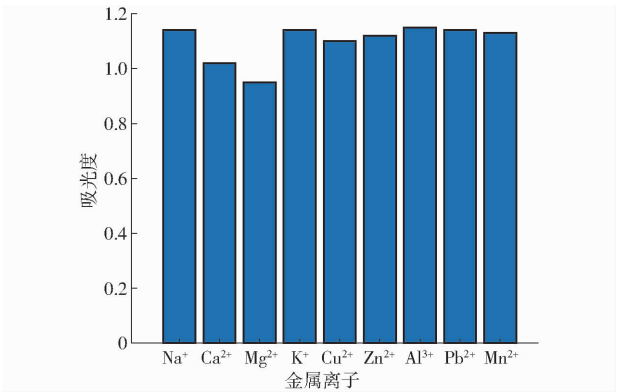


图 7 金属离子对靛酚蓝法检测效果的影响
Fig. 7 Influence of metal ions on the detection effect of indophenol blue method

与氢氧根生成沉淀后影响了化学反应,使检测结果偏离了预期值,而其他金属离子并未影响体系的反应。

2.2 光谱预处理方法选择

测量光谱数据时,因实验条件、实验操作和光谱仪器工作情况等原因会使获得的原始光谱数据受到不同程度的干扰。对这些数据选择合适的预处理方法能有效地消除干扰的影响,利于提取有用的信息用来建模,提高所建立模型的准确性。本研究采用

了 SG 平滑、MSC、SNV、小波平滑和一阶微分等多种数据处理方法,根据预处理后建立的模型及模型评价指标来选择合适的预处理方法。图 8 为经过 5 种方法预处理后的光谱图,原始光谱的吸收峰在 694 nm 处。SG 和小波平滑后,光谱曲线高频噪声明显得到去除,使曲线更加平滑;MSC 和 SNV 能校正散射效应,使光谱曲线更加集中。最后用预处理后的数据建立模型,用模型性能评价不同算法的预处理能力。

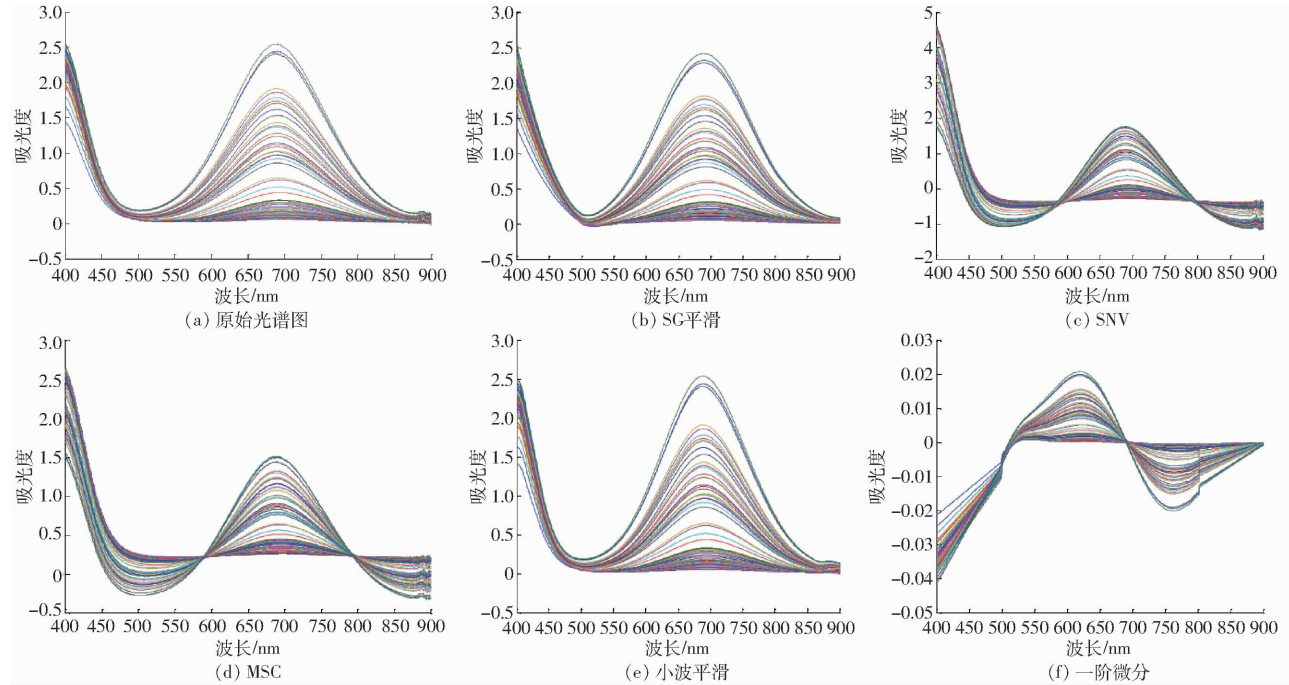


图 8 预处理后的光谱曲线

Fig. 8 Spectral curves after pretreatment

将原始数据和预处理后的数据用排序法划分建模集和预测集后建立 PLS 回归模型,并比较模型评价指标和结果,选择最佳的预处理方法。

从表 2 可以看出,SNV 处理后所建立的 PLS 回归模型评价指标有所下降,其他的预处理结果都使预测效果有不同程度的提高,能够说明合适的预处理方法可以去除光谱数据的噪声而提高模型的效果。综合 5 项评价指标,经过 MSC 加小波平滑预处理的光谱数据建立的模型性能最优,RMSEC 和 RMSEP 分别为 0.056 6 mg/L 和 0.067 7 mg/L,与未经过预处理的数据相比减小了 28.6% 和 14.9%,且 R_c^2 、 R_p^2 和 RPD 均有所提高。

2.3 样本集划分方法比较

合理划分建模集和预测集会提高模型的稳健性,划分的标准是建模集和预测集的浓度范围大致相同,最好的情况是预测集浓度范围包含在建模集内,数据分布均匀,这样建立的模型普适性较好,能用于溶液中氨氮浓度的检测。本研究选用排序法、

表 2 不同预处理方法建立的氨氮浓度模型

Tab. 2 Ammonia nitrogen concentration model established by different pretreatment methods

预处理方法	建模集		预测集		RPD
	R_c^2	RMSEC/ (mg·L ⁻¹)	R_p^2	RMSEP/ (mg·L ⁻¹)	
未预处理	0.969 2	0.079 3	0.961 3	0.079 6	4.859 3
SG 平滑	0.979 5	0.068 8	0.971 4	0.078 3	5.960 2
MSC	0.977 2	0.069 3	0.970 3	0.080 4	5.808 4
SNV	0.947 2	0.110 5	0.934 0	0.120 8	3.865 0
小波平滑	0.962 7	0.069 8	0.971 5	0.078 3	5.964 9
一阶微分	0.979 6	0.068 7	0.970 7	0.079 3	5.889 9
MSC + SG 平滑	0.979 7	0.068 5	0.971 6	0.078 1	5.980 3
SNV + SG 平滑	0.944 8	0.113 0	0.931 4	0.123 4	3.783 2
一阶微分 + 小波平滑	0.979 4	0.068 9	0.971 5	0.078 1	5.974 7
MSC + 小波平滑	0.986 2	0.056 6	0.979 4	0.067 7	6.893 2
SNV + 小波平滑	0.982 1	0.064 3	0.973 0	0.079 6	5.867 5

KS 法和 SPXY 法 3 种样本集划分方法,其中样本总数为 65,划分结果如表 3 所示。观察可知预测集的

质量浓度范围小于建模集,初步判断 3 种划分算法结果合理,可用于后续建模。其中排序法建模集和预测集的平均值相差较小,而且质量浓度范围分别为 0.002 ~ 1.5 mg/L 和 0.003 ~ 1.4 mg/L,说明分配较为均匀。而其他 2 种方法预测集划分集中,代表性较差。最后建立氨氮定量模型,用 R_c^2 、RMSEC、 R_p^2 、RMSEP 和 RPD 作为评价指标选出划分样本集最佳方法。

表 3 建模集和样本集分布情况

Tab.3 Distribution of modeling set and sample set					
样本集 划分 方法	样本集	样本 数	氨氮质量 浓度范围/ (mg·L ⁻¹)	平均值/ (mg·L ⁻¹)	标准偏差/ (mg·L ⁻¹)
排序法	建模集	45	0.002 ~ 1.5	0.390 1	0.488 5
	预测集	20	0.003 ~ 1.4	0.363 7	0.466 8
KS 法	建模集	45	0.005 ~ 1.5	0.541 5	0.500 5
	预测集	20	0.002 ~ 0.09	0.029 5	0.026 0
SPXY 法	建模集	45	0.005 ~ 1.5	0.541 5	0.500 4
	预测集	20	0.002 ~ 0.09	0.029 3	0.026 38

2.4 PLS 回归模型比较

利用 PLS 回归结合上述 3 种样本集划分方法和 MSC 处理后再小波平滑的预处理方法,建立氨氮质量浓度与吸光度的模型,通过评价指标对所建立的模型进行分析,结果如表 4 所示。

表 4 不同建模集划分方法结合 PLS 的氨氮质量浓度
预测模型结果比较

Tab.4 Comparison of results of ammonia nitrogen concentration prediction model combined with different modeling set division methods and PLS						
样本划分 方法	主因 子数	建模集		预测集		RPD
		R_c^2	RMSEC/ (mg·L ⁻¹)	R_p^2	RMSEP/ (mg·L ⁻¹)	
排序法	4	0.986 2	0.056 6	0.979 4	0.067 7	6.893 2
KS 法	2	0.981 1	0.068 2	0.972 6	0.042 9	0.606 6
SPXY 法	3	0.981 0	0.068 3	0.974 2	0.042 7	0.617 4

由表 4 可知,KS 法和 SPXY 法划分的预测集的 RMSEP 虽然较小,但是 RPD 同样偏小,仅为 0.6 左右。RPD 小于 2.5 时模型预测效果不理想,无法用于定量分析,故选用排序法划分样本集建立预测模型。建立的氨氮质量浓度 PLS 回归模型结果如图 9、10 所示,达到了较好的预测效果。

2.5 线性范围及检测限的确定

在优化条件下用本实验方法检测质量浓度为 0.005、0.095、0.6、0.8、1.05、1.35、1.5、1.65 mg/L 的标准样品,测量在 694 nm 处的吸光度,结果如图 11 所示。由图 11 可知,氨氮质量浓度在 0.005 ~

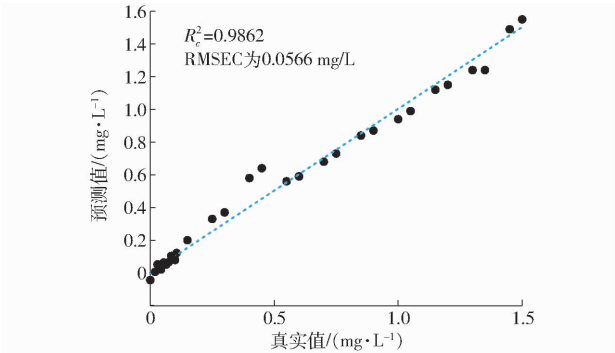


图 9 PLS 模型建模集真实值与预测值相关关系
Fig.9 Correlation diagram between true value and
predicted value of PLS model modeling set

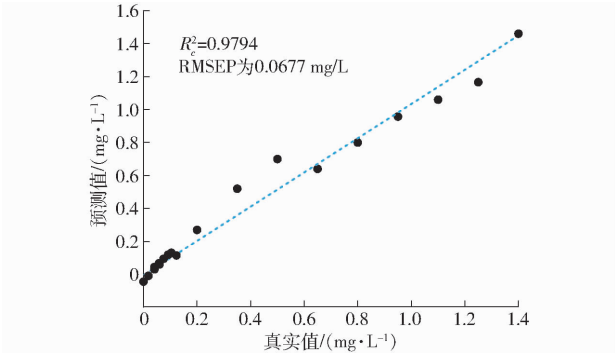


图 10 PLS 模型预测集真实值与预测值相关关系
Fig.10 Correlation diagram between true value and
predicted value of PLS model prediction set

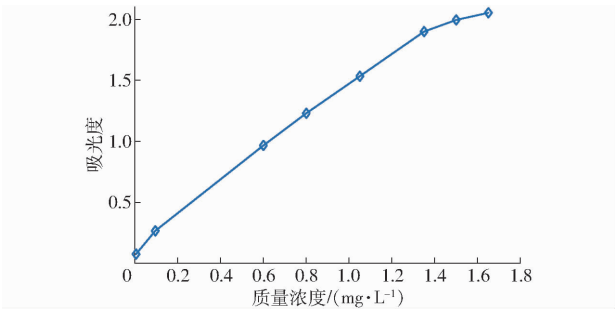


图 11 氨氮浓度与吸光度关系曲线
Fig.11 Relationship between ammonia nitrogen
concentration and absorbance

1.350 mg/L 范围内具有良好的线性关系。建立的一元线性模型如图 12 所示,决定系数 $R^2 = 0.997 3$ 。检出限($3N/S$; N :空白样品信号的标准差, S :标准曲线的斜率, 1.346 1)为 0.003 6 mg/L。随后采用本检测方法对含有 0.5 mg/L 氨氮的样品进行 7 次平行测定,检测后求得结果的相对标准偏差为 3.7%,证明本检测方法稳定且具有良好的重复性。

2.6 回收率精密度的检验

为验证结果的准确性,采用标准加入法检验靛酚蓝法是否适用于实际环境水样。对海水(样本取自莱州湾)、自来水和养殖水体(样本取自明波水产公司)样品进行加标回收实验,分别向样品中加入

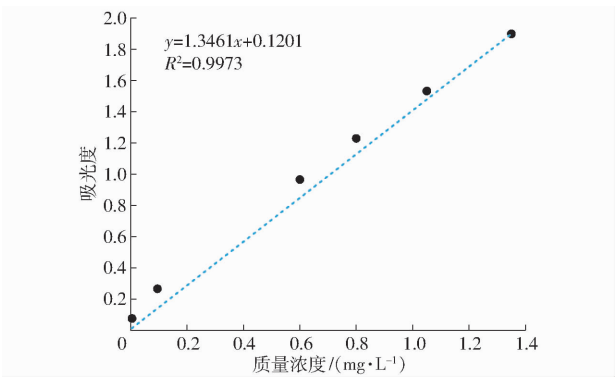


图 12 靛酚蓝法建立的氨氮浓度标准曲线

Fig. 12 Standard curve of ammonia nitrogen concentration established by indophenol blue method

0.5 mg/L 和 1.0 mg/L 的氨氮标准溶液,检测值和回收率为 7 组溶液的平均值,即每一种样品配制了 21 组溶液.由表 5 可知,平均回收率在 94% ~ 109% 之间,相对标准偏差在 2.3% ~ 5.8% 之间,说明该方法可用于实际水样的检测。

3 结论

(1)探究了靛酚蓝法的影响因素,得知 pH 值对该方法的影响最大,随着 pH 值增加吸光度逐渐减小,温度能加快反应,盐度对该方法几乎无影响,Mg²⁺ 和 Ca²⁺ 等能与氢氧根生成沉淀的高浓度金属离子,也会对反应有一定的影响。

(2)比较了 SG 平滑、MSC、SNV、小波平滑和一

表 5 靛酚蓝法检测实际样品中氨氮的回收实验结果 (n = 7)

Tab.5 Test results of recovery of ammonia nitrogen in actual samples detected by indophenol blue method (n = 7)

样品	加标量/ (mg·L ⁻¹)	检测值/ (mg·L ⁻¹)	RSD/%	平均回收 率/%
海水	0	0.02	3.9	
	0.5	0.49	3.1	94
	1.0	0.98	5.5	96.3
自来水	0	0.00		
	0.5	0.52	2.7	104
	1.0	1.09	2.3	109
养殖水体	0	0.32	3.6	
	0.5	0.83	5.8	101.2
	1.0	1.27	3.1	96.2

阶微分 5 种预处理方法,排序法、KS 法和 SPXY 法 3 种划分样本集方法,通过比较 PLS 回归模型评价指标发现,MSC 处理后小波平滑预处理效果较好,排序法划分的建模集和预测集能覆盖所有样品范围,所建立的模型代表性强。

(3)选取了海水、自来水和养殖水体 3 种实际样本进行加标回收实验,平均回收率 94% ~ 109%,相对标准偏差 2.3% ~ 5.8%,说明该方法可用于实际水样的检测。该方法在质量浓度为 0.005 ~ 1.350 mg/L 之间时具有良好的线性关系,检出限为 0.003 6 mg/L,说明该方法能实现低浓度氨氮检测。

参 考 文 献

[1] 于涵,丁兰,刘淑文,等. 海水氨氮检测技术研究进展[J]. 化学与生物工程, 2017, 35(5): 1-7.
YU Han, DING Lan, LIU Shuwen, et al. Research progress on determination of ammonia nitrogen in seawater[J]. Chemistry & Bioengineering, 2017, 35(5): 1-7. (in Chinese)

[2] LEGUA C M, LLORET S M, MARTINEZ Y M, et al. A guide for selecting the most appropriate method for ammonium determination in water analysis[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2006, 25(3): 282-290.

[3] 叶颖. 水中氨氮测定问题研究[J]. 科研, 2016, 9(3): 205-206.

[4] JAFARI M T, KHAYAMIAN T. Direct determination of ammoniacal nitrogen in water samples using corona discharge ion mobility spectrometry[J]. Talanta, 2008, 76(5): 1189-1193.

[5] 梁剑光,朱玲,徐正军. 靛酚蓝-分光光度法测定发酵液中氨态氮含量研究[J]. 食品与发酵工业, 2006(9): 134-137.
LIANG Jianguang, ZHU Ling, XU Zhengjun. Study on the determination of NH₄⁺-N content in microbial fermentation liquor by indophenol blue spectrophotometric method[J]. Food and Fermentation Industries, 2006(9): 134-137. (in Chinese)

[6] ZDZISŁAW P. The use of the delayed luminescence method for determinations of chlorophyll a concentrations in phytoplankton [J]. Oceanological and Hydrobiological Studies, 2009, 38(3): 43-49.

[7] LIAO Y B, CHEN N, DU G P. Strong luminescence enhancement of YVO₄: Eu³⁺, Ba²⁺ phosphors prepared by a solvothermal method[J]. Journal of Alloys and Compounds, 2013, 561: 214-219.

[8] ZHANG X, YAN C X, GUAN R F. Study on different synthesis methods of spherical YAG: Ce³⁺ phosphor and its luminescence properties[J]. Advanced Materials Research, 2015, 1088: 371-376.

[9] PALAN C B, OMANWAR S K. Effect of synthesis methods on luminescence properties of LiCaPO₄: Ce phosphor for radiation dosimetry[J]. Journal of Luminescence, 2016, 178: 340-346.

[10] DANIEL R, EDWIN G, RALPH M, et al. Proposing new approaches for dating young volcanic eruptions by luminescence methods[J]. Geochronometria, 2011, 39(1): 48-56.

[11] FRANCISCO J, GARCÍA-CAMPANA A, JEAN-JACQUES A. Analytical applications of photoinduced chemiluminescence in flow systems—a review[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 679(1-2): 17-30.

- [12] ZHYBAK M T, VAGIN M Y, BENI V, et al. Direct detection of ammonium ion by means of oxygen electrocatalysis at a copper-polyaniline composite on a screen-printed electrode[J]. *Microchim Acta*, 2016, 183(6): 1981–1987.
- [13] MARIA A R, CHRISTOPHER A P, JACEK J, et al. A new approach to dealing with high-to-low concentration ratios of sodium and ammonium ions in ion chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 804(1–2): 201–209.
- [14] 王作芬. 纳氏试剂分光光度法对水中氨氮的测定研究[J]. *天津化工*, 2019, 33(5): 30–32.
- [15] 张贵刚, 黎文豪. 纳氏试剂分光光度法测定氨氮标准曲线的线性分析[J]. *化工管理*, 2019(22): 22–24.
- [16] 张根宝, 刘晓勇, 谢晓静. 基于水杨酸法的水质氨氮在线检测系统的设计[J]. *计算机工程应用技术*, 2015, 11(36): 123–125.
- ZHANG Genbao, LIU Xiaoyong, XIE Xiaojing. Design of water ammonia nitrogen online detection system based on salicylic acid[J]. *Computer Knowledge and Technology*, 2015, 11(36): 123–125. (in Chinese)
- [17] 何双. 浅谈氨氮在线分析仪比对验收监测的现状与建议[J]. *绿色科技*, 2013(5): 208–209.
- [18] 林秉承, 秦建华. 微流控芯片实验室[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 71–73.
- [19] WANG W, WANG Z J, LIN X L, et al. Simultaneous analysis of seven oligopeptides in microbial fuel cell by micro-fluidic chip with reflux injection mode[J]. *Talanta*, 2012, 100(15): 338–343.
- [20] XU Y, ZHANG J, ZHANG X F, et al. Separation of amino acids by in-situ polymerized anion exchange micro-monolithic column on micro-fluidic chip[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2006, 34(1): 43–46.
- [21] 方肇伦. 微流控分析芯片[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [22] 李战华, 吴健康. 微流控芯片中的流体流动[M]. 北京: 科学出版社, 2012.

(上接第 396 页)

- [71] PAPADAKIS V M, PAPADAKIS I E, LAMPRIANIDOU F, et al. A computer-vision system and methodology for the analysis of fish behavior[J]. *Aquacultural Engineering*, 2012, 46: 53–59.
- [72] 穆春华, 范良忠, 刘鹰. 基于计算机视觉的循环水养殖系统残饵识别研究[J]. *渔业现代化*, 2015, 42(2): 33–37.
- MU Chunhua, FAN Liangzhong, LIU Ying. Research on the residual feeds recognition of recirculating aquaculture systems based on computer vision[J]. *Fishery Modernization*, 2015, 42(2): 33–37. (in Chinese)
- [73] 钱阳. 基于图像动态获取的水产养殖智能投饵机控制系统研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2017.
- QIAN Yang. Research on control system of aquaculture intelligent feeder based on dynamic image acquisition[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2017. (in Chinese)
- [74] LAGARDERE J P, MALLEKH R. Feeding sounds of turbot(*Scophthalmus maximus*) and their potential use in the control of food supply in aquaculture[J]. *Aquaculture*, 2000, 189: 251–258.
- [75] 郭俊. 基于图像与声音信息的养殖鱼群摄食规律与投饵技术研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2018.
- GUO Jun. Study on feeding pattern and feeding technology of cultured fish based on image and sound information[D]. Ningbo: Ningbo University, 2018. (in Chinese)
- [76] 黄飞, 毛罕平, 缪小花. 池塘养殖船自动导航系统的设计与研究[J]. *农机化研究*, 2015, 37(4): 117–120.
- HUANG Fei, MAO Hanping, MIU Xiaohua. Design and research of automatic navigation system for pond culture boat[J]. *Journal of Agricultural Mechanization Research*, 2015, 37(4): 117–120. (in Chinese)
- [77] 缪新颖, 邓长辉, 高艳萍. 数据融合在水产养殖监控系统中的应用[J]. *大连水产学院学报*, 2009, 24(5): 436–438.
- MIU Xinying, DENG Changhui, GAO Yanping. Application of data fusion in an aquaculture supervisory system[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(5): 436–438. (in Chinese)
- [78] 蒋建明, 朱正伟, 李正明, 等. 水产养殖中复合精确自动增氧技术研究[J/OL]. *农业机械学报*, 2017, 48(12): 334–339.
- JIANG Jianming, ZHU Zhengwei, LI Zhengming, et al. Technology of green accurate oxygen enhancement in squaculture[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2017, 48(12): 334–339. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20171241&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2017.12.041. (in Chinese)
- [79] 段青玲, 刘怡然, 张璐, 等. 水产养殖大数据技术研究进展与发展趋势分析[J/OL]. *农业机械学报*, 2018, 49(6): 1–16.
- DUAN Qingling, LIU Yiran, ZHANG Lu, et al. State-of-the-art review for application of big data technology in aquaculture[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2018, 49(6): 1–16. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20180601&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2018.06.001. (in Chinese)