

应用于磷酸盐氧同位素测定的海水中溶解态磷酸盐的富集、分离与纯化

林继军, 陈志刚*, 刘广山

(厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 海水中溶解态磷酸盐的氧同位素组成($D^8 O_p$) 是海洋磷循环研究的有效示踪剂之一. 海水中溶解态磷酸盐的富集、分离与纯化研究是测定海水磷酸盐氧同位素组成的基础. 通过对国内外海水中磷酸盐氧同位素组成的测定方法进行查阅, 选择改进后的 MAGIC2CePO₄ 沉淀-阳离子交换树脂法对海水中溶解态磷酸盐进行富集、分离与纯化, 并对实验条件进行了探讨. 实验结果表明, 所采用的方法对于 3 种不同溶液体系 3 个步骤的磷酸盐平均回收率分别为 92.8%, 88.2% 和 98.3%, 全流程磷酸盐回收率达到 80% 以上, 因此可作为海水磷酸盐氧同位素测定中的重要前提.

关键词: 海水; 溶解态磷酸盐氧同位素组成; 富集; 分离; 纯化

中图分类号: P 76

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2010) 022-02382-04

磷在一些现代河口及大洋中是浮游植物初级生产力的限制因子, 其对海洋中/生物泵的影响最终会对大气 CO₂、O₂ 含量及全球气候变化产生深远影响. 同时, 沿岸海域磷的环境污染产生的生物多样性减少、富营养化甚至赤潮问题日益引起人们的关注^[124].

尽管海洋中磷循环研究十分重要, 但对其研究的广度和深度却还不够, 某种程度上这是由于磷循环示踪方法相对较少. 研究发现, PO₄³⁻ 中的 P-O 键十分稳定, 在自然界温度和 pH 范围内且没有生物作用的情况下, PO₄³⁻ 中的氧几乎不和周围水分子的氧发生交换^[27]. 结合环境水温和水分子的 D⁸O 信息, 磷酸盐氧同位素组成能够对海水中磷的来源或磷的生物利用效率进行示踪研究^[811].

对国内外磷酸盐氧同位素组成测定方法^[9, 1215] 的研究发现, McLaughlin^[9] 的方法相对简便, 且只需要 3.5 Lmol 的氧即 0.7 mg Ag₃PO₄. 该方法在形成 Mg(OH)₂ 共沉淀后, 先用浓 HAc 预溶解, 然后加 10 mol/L HNO₃ 溶解, 最后用 1 mol/L KAc 的缓冲溶液调节 pH. 但作者发现用 KAc 调节 pH 到 5 后, 即使加入大量的 KAc 溶液, 酸度就难再提高, 而且会使溶液体积增大, 导致离心难度加大. 原因可能是 HAc 和

KAc 形成了缓冲体系, 因此作者做了一些改进, 即先用 0.5 mol/L 稀 HNO₃ 预溶解, 再用 10 mol/L HNO₃ 溶解, 最后用 KAc 溶液调节 pH, 这样既易于调节 pH, 溶液体积变小, 离心难度随之降低.

海水成分复杂, 海水中磷酸盐氧同位素组成的测定需先将海水样品中溶解态磷酸盐进行富集、分离与纯化, 使之转化为纯 Ag₃PO₄ 形态, 最后通过高温裂解/元素分析仪-同位素比值质谱仪(TC/EA2IRMS) 来测定. 其中磷酸盐的富集、分离与纯化是关键. 本文选择改进后的 MAGIC2CePO₄ 沉淀-阳离子交换树脂法对海水中溶解态磷酸盐进行富集、分离与纯化, 并对实验条件及回收率进行了探讨, 为海水中溶解态磷酸盐氧同位素的测定奠定基础.

1 实验部分

1.1 材料与试剂

器皿: 250 mL 聚乙烯塑料瓶, 100 mL 离心管, 不同规格移液管和烧杯若干, 所用器皿均在 10% (体积分数) 的硝酸中浸泡, 使用前用去离子水洗涤干净;

试剂: Ce(NO₃)₃·6H₂O (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司), MillQ 去离子水, 国产 732 型阳离子交换树脂等;

仪器: 低速离心机, TD5A2WS (江苏省恒丰仪器制造有限公司); pH 计 Derwer UB27 (北京赛多利斯仪器系统有限公司);

天然海水: 取自厦门大学海洋楼生态池(即从厦门大学海洋楼近岸抽取的海水, 经过一段时间沉淀而成,

收稿日期: 200920221

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(40706033); 中国大洋协会国际海底区域研究开发/十一五项目(DYXM21152021212); 厦门大学自选课题(2002xjkt018)

* 通讯作者: chze@xmu.edu.cn

与近岸海水相比主要是悬浮颗粒物减少了), 未做任何处理, 磷含量是 1.48 Lmol/L (已测);

体系 Ñ (去离子水外加磷、镁体系): 每 500 mL 去离子水加入 80 Lmol KH₂PO₄ 和 2 g MgCl₂;

体系 ò (人工海水外加磷体系): 人工海水按照海洋监测规范^[16]的方法配制, 每 500 mL 人工海水加入 80 Lmol KH₂PO₄;

体系 ó (天然海水外加磷体系): 每 500 mL 天然海水加入 80 Lmol KH₂PO₄。

1.2 方法与步骤

天然海水是一个复杂的多组分的多相体系, 包括多种有机的和无机的、溶解态的和悬浮态的物质, 故没有直接对大体积天然海水进行研究, 而是分别对模拟的海水体体系 Ñ、ò、ó 进行溶解态磷酸盐的富集、分离与纯化回收率的实验。

本方法需至少 3.5 Lmol 的氧即 0.7 mg Ag₃PO₄, 相当于需 DIP(Dissolved inorganic phosphate) 含量 0~0.45 Lmol/L 的厦门海域海水^[17] 至少 2 L, 这是在磷浓度最高且回收率 100% 情况下的计算量。本实验采用磷含量较高(外加 PO₄³⁻) 而样品体积较小的体系进行研究。

实验流程如图 1 所示。在进行实验前, 为确定加入的 NaOH 的量对 MAGIC 步骤磷酸盐回收率的影响, 首先按 NaOH 溶液和海水样品体积比为 0.022 50 B 1, 0.026 25 B 1, 0.030 00 B 1, 0.033 75 B 1, 0.037 50 B 1, 0.041 25 B 1, 0.045 00 B 1, 0.048 75 B 1 对 8 份 500 mL 天然海水进行实验, 分别记为 1~8 号样品, 待形成 Mg(OH)₂ 沉淀后, 测定沉淀溶解液中的磷含量并计算回收率。

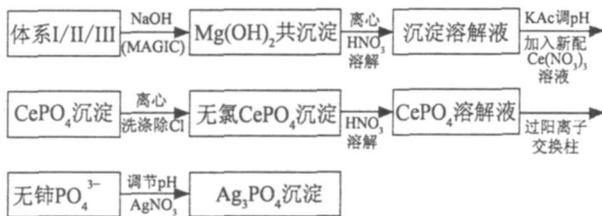


图 1 从海水中提取 DIP 的流程图

Fig. 1 Flowchart for extraction of dissolved inorganic phosphate from seawater

对于 3 个体系分别取 8 份 500 mL 水样, 进行平行实验。每个水样各加入 1 mol/L 的 NaOH 溶液 19 mL (按 NaOH 溶液和海水样品体积比 0.037 50 B 1 计算得出), 形成 Mg(OH)₂ 沉淀, 沉淀溶解后取 0.5 mL 溶解液, 测定其磷酸盐含量并计算回收率, 即 MAGIC

法磷酸盐回收率。将 Mg(OH)₂ 沉淀转移到离心管中, 在 3 500 r/min 条件下离心 15 min。弃去上清液, 用最小量 1 mol/L HNO₃ 溶解沉淀。加入过量新配制的 1 mol/L Ce(NO₃)₃ 溶液, 形成 CePO₄ 沉淀, 在 3 500 r/min 条件下离心 15 min, 弃去上清液。加入 20 mL 0.5 mol/L 的 KAc 溶液, 振荡使 CePO₄ 沉淀再悬浮并离心, 反复该步骤数次直到所有的 Cl⁻ 都从溶液中除去, 可通过向上清液中添加 AgNO₃ 来判断 Cl⁻ 是否清除干净, 通常需要洗涤 3 次才能完全去除 Cl⁻。将洗净的 CePO₄ 沉淀用最小体积(约为 2~4 mL)的 1 mol/L HNO₃ 溶解, 形成 CePO₄ 溶解液, 取出 0.5 mL 用磷钼蓝法测定磷含量并计算回收率, 即 CePO₄ 法磷酸盐回收率。剩余溶液进行过柱操作。最后取 CePO₄ 溶解液 1 mL, 在 732 型阳离子交换树脂柱中浸泡 10 min 后, 用 40 mL 去离子水以 10 mL/min 流速洗涤交换柱 3 次, 测定洗脱液中的磷含量并计算回收率, 即阳离子交换树脂法磷酸盐回收率。

2 结果与讨论

2.1 NaOH 用量对 MAGIC 步骤磷酸盐回收率的影响

由图 2 可知, 随着加入的 NaOH 量的增加, MAGIC 过程中样品磷酸盐回收率依次为 92.6%, 92.3%, 92.7%, 93.3%, 94.1%, 93.9%, 94.2%, 94.1%, 当 V(NaOH) : V(海水) = 0.037 50 B 1 时磷酸盐回收率达到最大值。

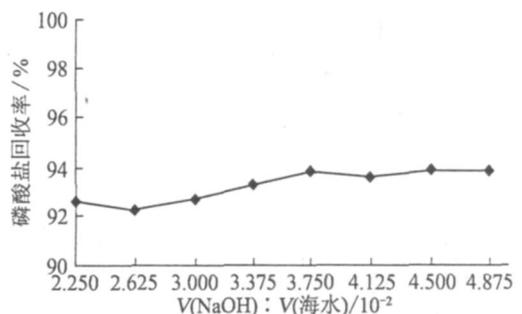


图 2 MAGIC 过程中 NaOH 用量与 PO₄³⁻ 回收率的关系

Fig. 2 Relationship between added NaOH volume and PO₄³⁻ recovery of MAGIC procedure

2.2 MAGIC2CePO₄ 沉淀2阳离子交换树脂法全流程磷酸盐回收率

对 MAGIC2CePO₄ 沉淀2阳离子交换树脂 3 个步骤的磷含量进行测定。MAGIC 法对溶解态磷酸盐进行富集的结果表明: NaOH 溶液和海水体积比为

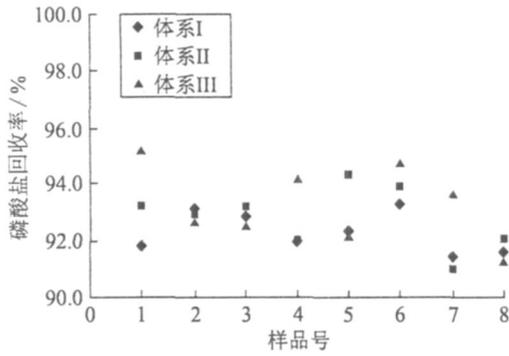


图3 三海水体系 MAGIC 过程中 PO₄³⁻ 的回收率
Fig. 3 PO₄³⁻ recovery of MAGIC process of three seawater systems

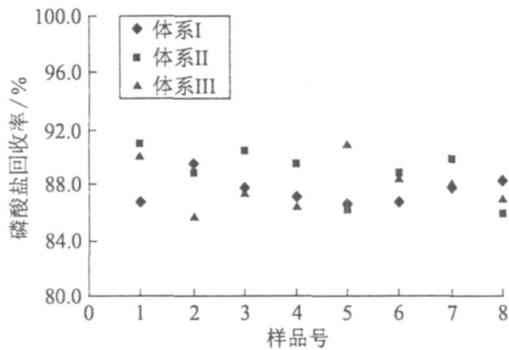


图4 三海水体系 CePO₄ 溶解液中 PO₄³⁻ 的回收率
Fig. 4 PO₄³⁻ recovery of CePO₄ solution of three seawater systems

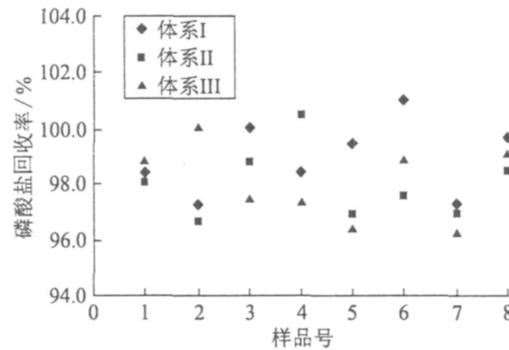


图5 三海水体系阳离子交换树脂 PO₄³⁻ 的回收率
Fig. 5 PO₄³⁻ recovery of cation exchange resin of three seawater systems

0.037 50 B 1 时, 体系 Ñ、ò、ó 富集磷酸盐的回收率超过 92%(图 3)。CePO₄ 法对溶解态磷酸盐进行分离与纯化结果显示, 对于 3 个体系 8 个平行样, 磷酸盐回收率均超过 87%(图 4)。阳离子交换树脂法对溶解态磷酸盐进行分离与纯化结果显示: 该步骤体系 Ñ、ò、ó 对于 8 个平行样, 磷酸盐回收率均超过 97%(图 5)。3 个体系 MAGIC 法、CePO₄ 法和阳离子交换树脂法的平均回收率分别为 92.8%、88.2% 和 98.3%。全流

表 1 各步骤及全流程磷酸盐回收率

Tab. 1 The PO₄³⁻ recovery of each and total process

海水体系	磷酸盐回收率/%			
	MAGIC 法	CePO ₄ 沉淀法	阳离子树脂法	全流程
体系 Ñ	92.3	87.6	98.9	80.0
体系 ò	92.8	88.8	98.0	80.8
体系 ó	93.3	88.1	98.1	80.7
平均值	92.8	88.2	98.3	80.5

程的回收率都在 80% 以上, 均值为 80.5%(表 1)。

海水中溶解态磷酸盐的富集、分离与纯化和 pH 关系很大, 因此每一步都要维持适当的 pH 以保证高的回收率, 可用 pH 计进行检验。用 HNO₃ 代替 HAc 直接溶解 Mg(OH)₂ 沉淀后, 调节 pH 的效果较好, 但是 HNO₃ 的加入量必须是刚好适量, 否则 pH 也很难再用 KAc 调节。MAGIC 过程对磷酸盐进行富集时, NaOH 量过大会使沉淀量增大, 沉淀量增大会吸附更多的溶解有机质, 且实验过程中的离心难度也会加大; 而 NaOH 量过小则有可能造成低回收率。因此选择 NaOH 溶液和水体积比为 0.037 50 B 1 比较合理。也可以通过多次 MAGIC 来降低沉淀量, 并可分离其他离子。CePO₄ 沉淀过程中由于 CePO₄ 沉淀是白色细小颗粒, 不易察觉, 待完全沉淀需等待较长时间, 且应保证 Ce³⁺ 过量以使磷酸盐能完全沉淀。否则可能会导致磷酸盐氧同位素的分馏, 使测量结果偏离真实值。在 CePO₄ 残渣步骤中去除 Cl⁻ 上给与更多的重视。否则 Cl⁻ 将会与银在最终的沉淀中发生反应和影响 Ag₃PO₄ 的沉淀。

3 结 论

本实验的目的是将海水中的溶解态磷酸盐进行富集、分离与纯化, 为将其转化为纯的 Ag₃PO₄ 进行 IRMS 测定做准备。对于同位素比值测定, 没有达到完全回收对结果影响不大, 但回收率高会减小样品的需要量。由于实验步骤较多, 因此全流程回收率难以接近 100%。但实验结果显示: 该方法对于 3 种不同溶液体系 3 个步骤的 PO₄³⁻ 平均回收率分别为 92.8%、88.2% 和 98.3%。全流程的回收率都在 80% 以上, 均值为 80.5%。因此本方法可作为海水磷酸盐氧同位素测定的重要前提。

参考文献:

[1] Thingstad T F, Krom M D, Mantoura R F C, et al. Nature of phosphorus limitation in the ultraoligotrophic eastern

- mediterranean [J]. *Science*, 2005, 309: 106821071.
- [2] Wu J, Sunda W, Boyle E A, et al. Phosphate depletion in the Western North Atlantic Ocean[J]. *Science*, 2000, 289: 752762.
- [3] SañudáWilhelmy S A, Kustka A B, Gobler C J, et al, Phosphorus limitation of nitrogen fixation by trichodesmium in the central Atlantic Ocean[J]. *Nature*, 2001, 411: 66269.
- [4] 郭卫东, 章小明, 杨逸萍, 等. 中国近岸海域潜在性富营养化程度的评价[J]. *台湾海峡*, 1998, 17(1): 64270.
- [5] Blake R E, O Neil J R, Garcia G A. Systematics of microbially mediated reactions of phosphate: I. Degradation of organophosphorus compounds [J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 1997, 61: 44124422.
- [6] O Neil J R, Vennemann T W, Mckenzie W F. Effects of speciation on equilibrium fractionations and rates of oxygen isotope exchange between $(\text{PO}_4)_{\text{aq}}$ and H_2O [J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 2003, 67: 31323144.
- [7] Liang Y, Blake R E. Oxygen isotope studies of biogeochemical cycling of phosphorus [J]. *Organic Geochemistry*, 2006, 37: 126321277.
- [8] Paytan A, Yehoshua K, Amir N, et al. Rapid biologically mediated oxygen isotope exchange between water and phosphate[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2002, 6(1): 10213.
- [9] McLaughlin K. The oxygen isotopic composition of phosphate in marine and estuarine systems: a tracer for phosphate sources and cycling[D]. California: Stanford, 2003.
- [10] Colman A S, Blake R E, Karl D M. et al. Marine phosphates and organic matter remineralization in the oceans [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102: 1302213028.
- [11] Markel D, Kolodny Y, Luz B, et al. Phosphorus cycling and phosphorus sources in Lake Kinneret: tracing by oxygen isotopes in phosphate [J]. *Israel Journal of Earth Sciences*, 1994, 43: 1652178.
- [12] Longinelli A, Bartelloni M, Cortecchi G. The isotopic cycle of oceanic phosphate, I [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 1976, 32(2): 382392.
- [13] Karl D M, Tien G. MAGIC: a sensitive and precise method for measuring dissolved phosphorus in aquatic environments [J]. *Limnol Oceanogr*, 1992, 37: 1052116.
- [14] ThomsonBuldis A, Karl D. Application of a novel method for phosphorus determinations in the oligotrophic North Pacific Ocean [J]. *Limnol Oceanogr*, 1998, 43: 15621577.
- [15] Colman A S. The oxygen isotope composition of dissolved inorganic phosphate and the marine phosphorus cycle[D]. Connecticut: Yale University, 2002.
- [16] 国家海洋局. 海洋监测规范 [M]. 北京: 海洋出版社, 1991: 179.
- [17] 陈水土, 阮五崎, 郑瑞芝. 九龙江口、厦门西海域磷的生物地球化学研究 [J]. *水体中溶解态磷与颗粒态磷的含量、分布与转化* [J]. *海洋学报: 中文版*, 1993, 15(1): 6270.

The Preconcentration, Separation and Purification of Phosphate for the Seawater Dissolved Phosphate Oxygen Isotope Composition Analysis

LIN Jijun, CHEN Zhigang*, LIU Guangshan

(College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Dissolved phosphate oxygen isotope composition ($\text{D}^8\text{O}_\text{p}$) was an effective tracer of ocean phosphate cycle. The preconcentration, separation and purification of phosphate was the foundation of seawater phosphate D^8O analysis. Some popular seawater phosphate D^8O analysis methods were reviewed. Then MAGIC-CePO₄ coprecipitation-cation exchange resin separation method was chosen to preconcentrate, separate and purify the phosphate. Some basic experiment conditions were also discussed. The results indicate that the mean phosphate recoveries of three procedures for three systems are 92.8%, 88.2%, 98.3%, and the total recovery of phosphate is more than 80%, so this method can be served as a basic precondition to determine the oxygen isotope composition of dissolved phosphate in seawater.

Key words: seawater; dissolved phosphate oxygen isotope composition; preconcentration; separation; purification