第 42 卷　第 3 期　　应 用 海 洋 学 学 报　　Vol. 42, No. 3
2023 年 8 月　　Journal of Applied Oceanography　　Aug., 2023

EGTA 滴定法测定海水 Ca^{2+} 浓度精度评估及其在近海海域实测的必要性

张　锗,边海珍,任宏伟,胡玉斌*
(山东大学海洋研究院,山东 青岛 266237)

摘要:海水 Ca^{2+}浓度是计算碳酸钙饱和度的重要参数之一,通常由海水钙盐比值计算得出,但该方法在受多种因素影响的近海海域可能不适用。本研究开展了 EGTA 自动电位滴定法对不同盐度海水 Ca^{2+}浓度测定精度和准确度的研究,探究"盐效应"对 Ca^{2+}浓度测定可能存在的影响,并比较了近海养殖区海水实测 Ca^{2+}浓度与通过钙盐比估算值的差异。研究表明:①EGTA 自动电位滴定法测定不同盐度海水 Ca^{2+}浓度精度较高,在各个盐度条件下,5 次平行测定的标准偏差为 0.001~0.006 mmol/kg,精度均优于 0.1%;②在盐度 20.00~34.62 范围内,Ca^{2+}的实测值与通过钙盐比值计算所得的相对误差为-0.043%~0.023%,准确度在± 0.05%内;③不同盐度海水样品 Ca^{2+}浓度的实测值与理论值基本吻合,电位滴定法测定 Ca^{2+}浓度不存在"盐效应"问题;④受陆源输入过程的影响,近海(烟台牟平养殖区)表层及底层海水 Ca^{2+}的实测值比按钙盐比值的计算值分别高出0.360 mmol/kg 和 0.333 mmol/kg,表明利用钙盐比值估算法不适用于近海海水中 Ca^{2+}浓度,通过实测 Ca^{2+}浓度计算近海海水碳酸钙饱和度可以更准确评估近海酸化的程度。

关键词:海洋化学;近海海水;海洋酸化;钙盐比;钙离子;电位滴定法
DOI: 10.3969/J.ISSN.2095-4972.20220402001
中图分类号:P734　　**文献标识码**:B　　**文章编号**:2095-4972(2023)03-0514-06

海洋作为 CO_2的巨大储存库,吸收了约 30%人类活动排放的 CO_2[1],导致海洋酸化[2-4]。海水 pH 降低的同时,海水中碳酸钙($CaCO_3$)饱和度随之降低[5],对钙化生物生理、生长发育和生存产生影响[6]。因此,通常用 pH 和碳酸钙饱和度(Ω),尤其是文石饱和度(Ω_{arag})来评估海洋酸化及其对钙化生物的影响。

Ca^{2+}是海水 6 种主要常量成分之一,其浓度仅次于 Na^+和 Mg^{2+},在大洋表层海水保守性较好[7]。但与其他保守离子相比,在具有复杂生物地球化学过程特征的河口区、近海养殖区域 Ca^{2+}的保守性较差[8-9]。以往海水 Ca^{2+}浓度大多通过海水盐度估算(认为不同盐度海水中 Ca^{2+}浓度与盐度呈正比关系,当盐度为 35 时 Ca^{2+}浓度为 10.282 mmol/kg[7]),进而计算海水的文石饱和度(Ω_{arag})。但在近海海域,受更多因素的影响,海水中 Ca^{2+}浓度与盐度可能偏离理论钙盐比值,直接通过钙盐比值估算近海海水 Ca^{2+}的浓度会导致酸化程度评估的偏差,而基于实测 Ca^{2+}浓度计算海水 Ω_{arag}的相关研究较少[10-14]。

自 20 世纪 60 年代开始,Ca^{2+}浓度滴定方法一直在不断地改进和发展中[15-16]。早期通过指示剂目测判断滴定终点测定 Ca^{2+}浓度的方法人为误差较大,精度较低。之后采用 EDTA(乙二胺四乙酸,$C_{10}H_{16}N_2O_8$)滴定法,但该方法也存在一定限制。例如,在利用 EDTA 滴定海水样品时,EDTA 除了能够螯合 Ca^{2+}外,对 Mg^{2+}也存在亲和性,进而影响 Ca^{2+}测定结果[17]。

近年来,以 EGTA(3,6-二氧杂-1,8-辛二胺四乙酸,$C_{14}H_{24}N_2O_{10}$)作为络合滴定剂测定海水 Ca^{2+}浓度的方法已被广泛接受[18-19]。EGTA 是一种氨基

收稿日期:2022-04-15
资助项目:国家重点研发计划"全球变化及应对专项"(2020YFA0608304);广东省基础与应用基础研究基金(2021B1515120080);山东大学青年学者未来计划(2018WLJH43)
作者简介:张锗(1998—),男,硕士研究生;E-mail: zzheedu@163.com
* **通讯作者**:胡玉斌(1983—),男,副研究员;E-mail: yubinhu@sdu.edu.cn

多羧酸螯合剂,与 EDTA 相比,EGTA 对 Mg^{2+}的亲和性弱,对 Ca^{2+}更具选择性,适用于海水及含盐量高的水中 Ca^{2+}浓度的滴定。早期 EGTA 方法主要通过人工配置 Ca^{2+}标准溶液进行测定,操作繁琐,受不同实验人员的影响,可能存在人为误差,进而导致测定结果偏离真实值[15]。此后,张伟等对自动电位滴定法测定海水中 Ca^{2+}浓度的工作条件(滴定模式、EGTA 预滴加体积、加液量和测量点密度等)进行实验优化,但并未对样品"盐效应"问题进行评估[16]。

本研究以四硼酸钠缓冲溶液调节 pH,络合试剂 EGTA 为滴定剂,通过 Ca^{2+}选择性电极作为指示电极,开展了不同盐度梯度海水 Ca^{2+}浓度的测定研究。对方法的精度和准确度进行了评估,同时通过超纯水与西北太平洋表层海水不同比例混合,探究"盐效应"对 Ca^{2+}浓度测定可能存在的影响。最后通过测定近海养殖区海水验证实测 Ca^{2+}浓度的必要性。

1　材料与方法

EGTA 溶液(10 mmol/L):称取 3.8 g EGTA 溶于 30 mL NaOH 溶液(浓度为 1 mol/L)中,加水至 1 000 g。EGTA 的浓度通过国家海洋标准计量中心标准海水(Batch D190,盐度为 34.99)进行标定,其理论 Ca^{2+}浓度通过盐度与 Ca^{2+}的恒定比例关系计算所得(盐度为 35.00 时,海水 Ca^{2+}浓度为 10.282 mmol/kg[7])。

四硼酸钠缓冲溶液(0.05 mol/L):称 20 g 四硼酸钠溶于 80 mL 的 NaOH 溶液(浓度为 1 mol/L)中,加水至 1 000 g。

海水样品中 Ca^{2+}浓度测定方法如下:使用千分位电子分析天平准确称取 15 g 左右海水样品于 50 mL 塑料小烧杯中,加入磁搅拌子,插入 Ca^{2+}选择性电极(7321Ca 型,Hanon),开启搅拌后预加 3 mL 四硼酸钠缓冲溶液,利用自动电位滴定仪(T960,Hanon)滴加 EGTA 并记录电位变化,使用二阶微商法确定滴定终点,计算公式如下[19]:

$$C_{Ca} = \frac{V_{EGTA} \cdot C_{EGTA}}{m} \tag{1}$$

式(1)中:C_{Ca}为海水钙离子的浓度(mmol/kg),V_{EGTA}为滴定终点 EGTA 消耗的体积(mL),C_{EGTA}为 EGTA 的浓度(mmol/L),m 为样品的质量(g)。

为了比较样品的实测与估算的 Ca^{2+}浓度的差异,探讨海水样品实测 Ca^{2+}浓度的必要性,根据海水实测盐度计算了海水样品 Ca^{2+}浓度($C_{Ca\text{-}c}$),计算公式如下[7]:

$$C_{Ca\text{-}c} = S_M \times (C_{Ca\text{-}35}/35) \tag{2}$$

式(2)中:S_M代表实测盐度值,$C_{Ca\text{-}35}$代表盐度为 35 的海水 Ca^{2+}浓度理论值($C_{Ca\text{-}35}$ = 10.282 mmol/kg)。

为评估近海海水 Ca^{2+}非保守行为及其控制过程,定义实测的 Ca^{2+}浓度与通过盐度计算获得的理论 Ca^{2+}浓度的差值为超额钙($C_{Ca\text{-}e}$,单位为 mmol/kg)[20]:

$$C_{Ca\text{-}e} = C_{Ca\text{-}m} - C_{Ca\text{-}c} \tag{3}$$

式(3)中:$C_{Ca\text{-}m}$为实测 Ca^{2+}浓度。

为探究"盐效应"对 Ca^{2+}测定的可能影响,以西太平洋表层海水(S = 34.62,采自 20°N,150°E)为母液,通过重量法将其准确稀释到盐度为 32.00、30.00、25.00 和 20.00 的样品,钙离子浓度也同步被稀释,每组盐度海水样品平行测定 5 次。

为了评估近海海域 Ca^{2+}浓度测定的必要性,对山东省烟台市牟平海洋牧场设置采样点开展调查。调查时间为 2019 年夏季 6 月份(养殖季节),共设 3 个站位(A、B 和 C),每个站位取表底两层海水样品到 125 mL 高密度聚乙烯瓶中(Nalgene)。其中,表层海水样品在水面下约 2 m 处采集,底层海水样品在距离海底约 1 m 处采集。盐度通过多参数水质分析仪(Seabird)现场测定,盐度测定精度为 ±0.01。调查范围及站位分布如图 1 所示。

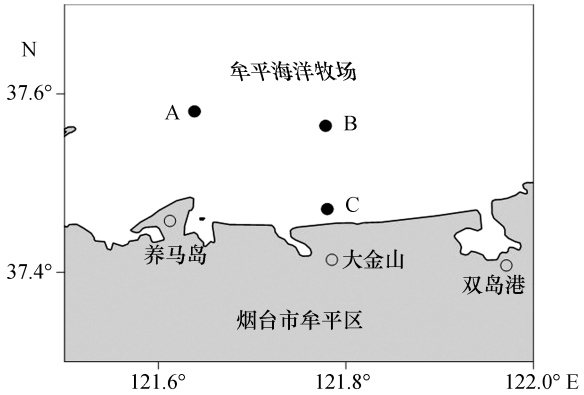

图 1　调查区域和站位分布

Fig.1　Area and sampling stations for investigation

2　结果与讨论

2.1　EGTA 全自动滴定测量 Ca^{2+}浓度的精度评估

不同盐度海水样品中 Ca^{2+}浓度的测定结果及标准偏差如表 1 所示。在盐度 20.00~34.62 范围内,Ca^{2+}浓度实测值为 5.871~10.171 mmol/kg,5 次平行测定的标准偏差为 0.001~0.006 mmol/kg,精度均优于 0.1%,表明该测定方法对不同盐度的海水样品具有一致的稳定精度。

2.2 测定方法准确度及“盐效应”

对采自西太平洋表层海水稀释成不同盐度的海水样品后,用 EGTA 全自动滴定方法实测的 Ca^{2+}浓度与计算的理论 Ca^{2+}浓度值的结果如表 1 所示。在盐度 20.00~34.62 范围内,Ca^{2+}的实测值与计算值绝对误差范围为-0.004~0.001 mmol/kg,控制在±0.005 mmol/kg内;相对误差范围为-0.043%~0.023%,控制在±0.05%内。为进一步验证方法的可靠性,对 IAPSO 标准海水(Batch P154,盐度为 35.00)同样进行 5 次平行测定,其测定值为 10.278±0.001 mmol/kg,与其理论计算值的绝对误差为-0.003 mmol/kg,相对误差仅为 0.029%。此外,标准海水盐度值不确定性在± 0.001,对钙离子理论值的计算所带来的不确定性低于 0.003%。因此,国家海洋标准计量中心标准海水和 IAPSO 标准海水均可作为一级标准溶液用于 EGTA 滴定剂浓度的标定,大洋表层海水可作为二级标准溶液进行样品测定过程的质量控制。

不同盐度的海水样品的实测值与计算值十分吻合,这表明了 EGTA 自动电位滴定法测定海水中 Ca^{2+}浓度时不存在“盐效应”问题。因此,可通过单一盐度标准海水对钙离子电极进行标定,进而测定不同盐度海水样品的 Ca^{2+}浓度。

表 1 不同盐度海水样品中 Ca^{2+}的浓度

Tab. 1 Measured Ca^{2+} concentration in seawaters with different salinities

盐度	实测 Ca^{2+}浓度 ± 标准偏差/(mmol · kg^{-1})	计算 Ca^{2+}浓度/(mmol · kg^{-1})	绝对误差/(mmol · kg^{-1})	相对误差/%
35.00(IAPSO)	10.278 ± 0.001	10.281	-0.003	0.029
34.62	10.171 ± 0.003	10.170	-0.001	0.010
32.00	9.403 ± 0.004	9.407	-0.004	-0.043
30.00	8.811 ± 0.006	8.813	-0.002	0.023
25.00	7.344 ± 0.003	7.344	0.000	0.000
20.00	5.871 ± 0.001	5.875	-0.004	-0.043

2.3 近海养殖海域超额钙及其成因

对牟平海洋牧场海水 Ca^{2+}浓度的测定值及其估算值如表 2 所示。表层海水的温度范围为 21.09~22.63 ℃,底层海水的温度范围为 15.53~17.03 ℃。表层海水的盐度范围为 30.95~31.17,底层海水的盐度范围为 31.19~31.32,海水温度和盐度整体变化不大。这与李成龙和杨波在牟平海洋牧场的调查研究结果一致[21-22]。3 个站位表层海水盐度和 Ca^{2+}浓度均低于底层,表底层 Ca^{2+}浓度出现了差异,可能是由于夏季水体分层所致。

3 个站位表层海水平均实测 Ca^{2+}浓度为 9.480 mmol/kg,而通过钙盐比值计算所得的 Ca^{2+}浓度为 9.120 mmol/kg,可见,实测值与估算值相差较大,表层海水 $C_{Ca\text{-}e}$为 0.360 mmol/kg;底层海水平均实测 Ca^{2+}浓度为 9.522 mmol/kg,计算的 Ca^{2+}浓度为9.189 mmol/kg,底层海水 $C_{Ca\text{-}e}$为 0.333 mmol/kg。牟平海洋牧场养殖生物(主要是扇贝)的钙化作用会降低 Ca^{2+}的浓度,理论上将导致实测值低于按钙盐比值给出的计算值($C_{Ca\text{-}e}<0$)。但结果显示,3 个站位表底海水 Ca^{2+}浓度的实测值均比按理论钙盐比值给出的计算值高($C_{Ca\text{-}e}>0$)。考虑到河流输入和近海海水混合过程,对海水 C_{Ca}与盐度(S)进行相关性分析(图 2)。海水实测 C_{Ca}-S 曲线高于保守曲线通过钙盐比值计算,表明确实存在超额钙的形成过程。实测海水 Ca^{2+}浓度与 S 具有显著正相关性($r = 0.84$;$P = 0.0104$),表明 Ca^{2+}浓度的分布与 S 有关。随着 S 的降低,实测 C_{Ca}-S 曲线与保守曲线偏离程度变大。表明陆源输入过程对超额钙的形成发挥着重要作用,这与祁第在长江口的调查研究结果一致[18]。

综上所述,陆源输入过程是导致近海海域 Ca^{2+}浓度正偏离基于钙盐比值计算所得浓度的重要因素。若直接通过钙盐比值估算近海海水 Ca^{2+}的浓度进而计算海水 Ω_{arag}可能会导致酸化程度评估的偏差,因此近海海水实测 Ca^{2+}浓度是十分必要的。

表 2　夏季牟平海洋牧场海水的 Ca^{2+}浓度

Tab. 2　Ca^{2+} concentration in Muping Marine Ranching in summer

采样点	采样深度 /m	盐度	实测 Ca^{2+}浓度 ± 标准偏差 /(mmol · kg^{-1})	计算 Ca^{2+}浓度 /(mmol · kg^{-1})	超额钙 /(mmol · kg^{-1})
A	2.1	30.95	9.474 ± 0.004	9.092	0.382
A	17.7	31.19	9.520 ± 0.003	9.164	0.356
B	2.1	31.01	9.459 ± 0.006	9.109	0.350
B	17.0	31.32	9.521 ± 0.001	9.200	0.321
C	2.1	31.17	9.508 ± 0.002	9.158	0.350
C	16.0	31.32	9.525 ± 0.000	9.202	0.323

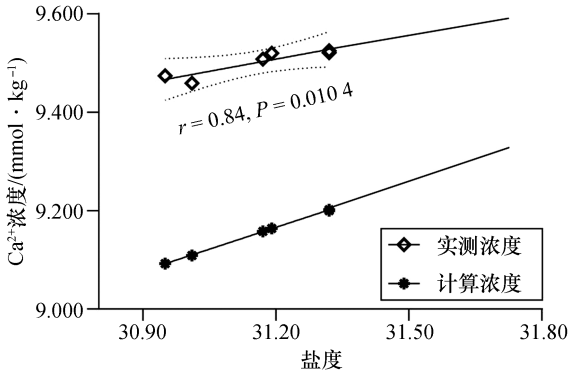

图 2　牟平海洋牧场海水 Ca^{2+}浓度与盐度的相关性分析

Fig. 2　Correlation analysis between Ca^{2+} concentration and salinity in Muping Marine Ranching

两条虚线代表拟合值均值在 95 %置信度下的置信区间。

3　结论

本研究对 EGTA 滴定法测定不同盐度海水 Ca^{2+}浓度的测定精度和准确度进行了评估,同时探究“盐效应”对 Ca^{2+}测定可能存在的影响。结果表明:

(1)EGTA 滴定法测定海水 Ca^{2+}浓度的测定准确度和精度均可控制在± 0.1%内。

(2)国家海洋标准计量中心标准海水和 IAPSO 标准海水均可作为一级标准溶液用于 EGTA 法测定 Ca^{2+}浓度的标定,大洋表层海水可作为二级标准进行样品测定过程的质量控制。

(3) 不同盐度海水样品 Ca^{2+}浓度的实测值与理论值基本吻合,电位滴定法测定 Ca^{2+}浓度不存在“盐效应”问题。

(4) 受陆源输入的影响,近海海水 Ca^{2+}的实测值高于按钙盐比估算的计算值,仅通过钙盐比估算 Ca^{2+}浓度可能难以评估近海酸化程度。

参考文献:

[1]　SOLOMON S, QIN D, MANNING M, et al. The physical science basis: contribution of working group I to the Fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change[R]//IPCC. IPCC Fourth assessment report (AR4). Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

[2]　DONEY C, FABRY J, FEELY A, et al. Ocean acidification: the other CO_2 problem[J]. Annual Review of Marine Science, 2009, 21: 169-192.

[3]　FABRY V J, SEIBEL B A, FEELY R A, et al. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes[J]. ICES Journal of Marine Science, 2008, 65(3): 414-432.

[4]　HÖNISCH B, RIDGWELL A, SCHMIDT D N, et al. The geological record of ocean acidification[J]. Science, 2012, 335(6 072): 1 058-1 063.

[5]　陈敏. 化学海洋学[M]. 北京:海洋出版社,2009.
CHEN M. Chemical oceanography[M]. Beijing: China Ocean Press, 2009.

[6]　KROEKER K J, KORDAS R L, CRIM R, et al. Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms[J]. Ecology Letters, 2010, 13(11): 1 419-1 434.

[7]　RILEY J P, TONGUDAI M. The major cation/chlorinity ratios in sea water[J]. Chemical Geology, 1967, 2: 263-269.

[8] CULKIN F, COX R A. Sodium, potassium, magnesium, calcium and strontium in sea water[J]. Deep-Sea Research and Oceanographic Abstracts, 1966, 13(5): 789-804.

[9] TSUNOGAI S, NISHIMURA M, NAKAYA S. Complexometric titration of calcium in the presence of larger amounts of magnesium[J]. Talanta, 1968, 15(4): 385-390.

[10] CHOI Y, CHO S, KIM D. Seasonal variation in aragonite saturation states and the controlling factors in the southeastern Yellow Sea[J]. Marine Pollution Bulletin, 2019, 150: 110695.

[11] LI C, ZHAI W. Mechanism-based deduction of subsurface aragonite saturation state in a semi-enclosed and seasonally stratified coastal sea[J]. Marine Chemistry, 2021, 232: 103958.

[12] XUE L, CAI W J. Total alkalinity minus dissolved inorganic carbon as a proxy for deciphering ocean acidification mechanisms[J]. Marine Chemistry, 2020, 222: 103791.

[13] ZHAI W D, ZHENG N, HUO C, et al. Subsurface pH and carbonate saturation state of aragonite on the Chinese side of the North Yellow Sea: seasonal variations and controls[J]. Biogeosciences, 2014, 11(4): 1 103-1 123.

[14] SUN H, GAO Z Y, ZHAO D R, et al. Spatial variability of summertime aragonite saturation states and its influencing factor in the Bering Sea[J]. Advances in Climate Change Research, 2021, 12(4): 508-516.

[15] LEBEL J, POISSON A. Potentiometric determination of calcium and magnesium in seawater[J]. Marine Chemistry, 1976, 4(4): 321-332.

[16] 张伟, 郝珍珍, 李铁, 等. 自动电位滴定法测定海水中的钙[J]. 海洋湖沼通报, 2017(5): 87-92.
ZHANG W, HAO Z Z, LI T, et al. Automatic potentiometric titration for the determination of calcium in seawater[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2017(5): 87-92.

[17] 国家环境保护局. 水质钙和镁总量的测定 EDTA 滴定法: GB/T 7477—1987[S]. 北京: 中国标准出版社, 1987.
State Environmental Protection Administration. Water quality-Determination of the sum of calcium and magnesium-EDTA titrimetric method: GB/T 7477-1987[S]. Beijing: Standards Press of China, 1987.

[18] 祁第. 长江口及中国近海的溶解钙[D]. 厦门: 厦门大学, 2013.
QI D. Dissolved calcium in the Yangtze River Estuary and the coastal waters of China[D]. Xiamen: Xiamen University, 2013.

[19] 谢式南, 陈国华, 王建华. 海水中钙的电位滴定[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 1998, 28(4): 622-626.
XIE S N, CHEN G H, WANG J H. Potentiometric titration of calcium in seawater[J]. Journal of Ocean University of Qingdao (Natural science), 1998, 28(4): 622-626.

[20] MILLIMAN J D, TROY P J, BALCH W M, et al. Biologically mediated dissolution of calcium carbonate above the chemical lysocline[J]. Deep-Sea Research Part I Oceanographic Research Papers, 1999, 46(10): 1 653-1 669.

[21] 李成龙. 北黄海南部近岸与中部远岸海域季节性酸化现象的对比研究[D]. 济南: 山东大学, 2019.
LI C L. A comparative study of seasonal acidification in southern nearshore and central offshore waters of the North Yellow Sea[D]. Jinan: Shandong University, 2019.

[22] 杨波. 养马岛附近海域生源要素的生物地球化学研究[D]. 烟台: 中国科学院大学(中国科学院烟台海岸带研究所), 2019.
YANG B. The biogeochemical study on biogenic elements in the coastal waters near the Yangma Island[D]. Yantai: Yantai Institute of Coastal Zone Research, University of Chinese Academy of Sciences, 2019.

Precision of EGTA titration on seawater Ca^{2+} concentration and the necessity for actual measurement in offshore waters

ZHANG Zhe, BIAN Haizhen, REN Hongwei, HU Yubin*

(Institute of Marine Science and Technology, Shandong University, Qingdao 266237, China)

Abstract: Seawater Ca^{2+} concentration is one of the important parameters for calculating calcium carbonate saturation, which is usually derived from seawater calcium-salinity ratio, but this may not be applicable in offshore waters because of influences of many factors. In this study, the accuracy and precision of Ca^{2+} concentration determined by automatic potentiometric titration at different salinities were investigated and the potential influence of the "salt effect" was evaluated. The difference between the measured Ca^{2+} concentration and the estimated value by seawater calcium-salinity ratio in the offshore mariculture area was compared. The results showed that: (1) the precision of Ca^{2+} concentration determined by automatic potentiometric titration was high at different salinities, with the standard deviations of five replicate determinations ranging from 0.001 to 0.006 mmol/kg, which were better than 0.1 %. (2) In the salinity range of 20.00-34.62, the relative errors between the measured and calculated values based on the calcium-salinity ratio of Ca^{2+} were −0.043 %−0.023 %, which were within ± 0.05 %. (3) The measured and

calculated values of Ca^{2+} concentration in seawater samples at different salinities agreed with each other, indicating that there was no "salt effect". (4) The measured values of surface and bottom seawater Ca^{2+} concentration in Muping Marine Ranching were higher than the calculated ones i.e. 0.360 mmol/kg and 0.333 mmol/kg, respectively, which might result from the impact of riverine input. Therefore, calculating the calcium carbonate saturation of offshore seawater by measured Ca^{2+} concentration can more accurately assess the extent of offshore acidification.

Key words: marine chemistry; coastal seawater; ocean acidification; calcium-salinity ratio; calcium ion; potentiometric titration

DOI: 10.3969/J.ISSN.2095-4972.20220402001

* Corresponding author (E-mail: yubinhu@ sdu.edu.cn)

(责任编辑:杜俊民)