

高灵敏度光度法测定地表水中硝酸盐和亚硝酸盐氮

丘星初 朱盈权

李 萃 昇

(江西省赣州地区环境科学研究所, 赣州市 341000)

(江西省赣州地区林业科学研究所, 赣州市 341000)

摘要 本文详细研究了在硫酸介质中, 邻苯氨基苯甲酸与 NO_3^- 和 NO_2^- 离子显色体系的光度性质与形成条件。结果表明, 显色产物的最大吸收 λ_{max} 位于 560—565nm。在此波长下, 表观摩尔吸光系数分别为: $\epsilon'_{\text{NO}_3^-} = 1.07 \times 10^5$ 和 $\epsilon'_{\text{NO}_2^-} = 1.77 \times 10^5$, 符合 Beer 定律的浓度范围为: $0.03-0.15 \mu\text{g}/\text{ml}(\text{NO}_3^--\text{N})$ 和 $0.05-0.20 \mu\text{g}/\text{ml}(\text{NO}_2^--\text{N})$ 。据此, 拟定了分光光度联合测定 NO_3^--N 和 NO_2^--N 的新方法, 应用于地表水的测定, 得到了满意的结果。

关键词 硝酸盐和亚硝酸盐氮联合测定, 分光光度法, 邻苯氨基苯甲酸, 地表水。

迄今为止, 常用于测定 NO_2^- 离子的光度法仍首推经典的 Griess 法。其次是一些形成偶氮染料的方法^[1-5]。Griess 法的 $\epsilon_{520} = 4.0 \times 10^4$, 而用于测定 NO_3^- 离子的光度法, 一般可分为:

(1) 硝化或氧化某些有机试剂, 以形成有色化合物;

(2) 将 NO_3^- 离子还原成 NO_2^- 或 NH_3 后再测定等两大类^[2,3]。

其中的酚二磺酸法 ($\epsilon_{410} = 9.4 \times 10^3$), 便是大家所熟知并广泛采用的。但无论是 Griess 法还是酚二磺酸法, 当用于测定痕量水平的 NO_2^- 和 NO_3^- 离子时, 均因其灵敏度低而难于满足分析要求。

邻苯氨基苯甲酸, 系一常用的氧化还原指示剂。但用于显色剂, 尤其用于 NO_2^- 和 NO_3^- 离子的联合光度测定, 则似尚未见。我们在实验中发现, 在硫酸介质中, 邻苯氨基苯甲酸能与 NO_3^- 和 NO_2^- 生成有色产物, 灵敏度高达 10^5 数量级。显然, 这是 Griess 法的四倍多, 酚二磺酸法的 11.4 倍。我们详细研究了此显色体系的

光度性质与形成条件, 据此拟定了地表水中 NO_3^- 和 NO_2^- 离子的联合光度测定的新方法。

一、实验部分

1. 仪器和试剂

721 型分光光度计, 0.5cm 比色皿

邻苯氨基苯甲酸溶液 (0.1% w/v): 100mg 邻苯氨基苯甲酸(A.R 级, 上海试剂厂产品)溶于 50ml 浓硫酸中。小心用水稀释并混匀, 冷却后用水稀释至 100ml。贮于阴凉处, 至少可稳定一个月。

硫酸银溶液: 称取 4.397g 硫酸银置于 1L 容量瓶, 加水溶解后, 稀释至刻度, 混匀。此溶液 1.00ml 可去除 1.00mg 氯离子。

氢氧化铝悬浮液: 溶解 125g 硫酸铝钾 $[\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ 于 1L 蒸馏水中, 加热至 60°C , 然后边搅拌边缓缓加入 55ml 氨水。放置约 1h 后, 移至一个大瓶中, 用倾斜法反复洗涤沉淀物, 直到洗涤液不含氯离子为止。加水

收稿日期: 1991 年 11 月 5 日

参 考 文 献

- 1 Riedel K et al. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 1989, 44:85
- 2 吴元喜. 传感技术学报. 1991, 4(1): 37
- 3 Karube I et al. *Analytica Chimica Acta.* 1988,

213:69

- 4 Strand S E et al. *JWPCF*, 1984, 56(5):464
- 5 李友荣等. 生物工程学报. 1989, 5: 235
- 6 Riedel K. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1988, 28: 316
- 7 中华人民共和国国家标准. GB7488-87, 五日生化需氧量 (BOD_5) 的测定。

至悬浮液体积约为 1L。

氨基磺酸水溶液: 0.8% (w/v)。

硝酸盐氮标准贮备液: 称取 0.7218 g 经 105—110℃ 干燥 2h 的硝酸钾(KNO_3)溶于水, 移入 1L 容量瓶中, 加水溶解后, 稀释至标线, 混匀。加 2ml 三氯甲烷作保存剂, 至少可稳定 6 个月。每 ml 该标准贮备液含 100 μg 氮。

亚硝酸盐氮标准贮备液: 称取 1.232 g 亚硝酸钠(NaNO_2)溶于 150ml 水中, 转移入 1L 容量瓶, 用水稀释至标线, 贮于棕色玻璃瓶中, 加入 1ml 三氯甲烷, 保存在 2—5℃, 至少可稳定 1 个月。此贮备液每 ml 含氮约 250 μg 。其准确浓度按文献[5]所述方法标定。

硝酸盐氮和亚硝酸盐氮的混合标准溶液: 取适量上述标准贮备液, 用水稀释成每 ml 含硝酸盐氮 0.9 μg , 含亚硝酸盐氮 0.1 μg 的混合标准溶液。现配现用。

2. 实验方法

取两份同量的混合标准溶液于 10 ml 容量瓶中, 加水补足至 2.5ml。在其中的—瓶中加入 0.8% 氨基磺酸溶液 1 滴, 另一瓶不加。在各瓶中加入 0.1% 邻苯氨基苯甲酸溶液 0.5ml。混匀后用注射器迅速加入 6.5ml 浓硫酸, 立即摇匀并冷却至室温, 用水稀释至标线, 混匀。放置 30min 后, 用 0.5cm 比色皿, 于波长 560—565nm 处, 以水作参比, 测定不加氨基磺酸溶液的吸光度, 减去试剂空白吸光度后得 A_1 ; 和测定加氨基磺酸溶液的吸光度减去试剂空白吸光度后得硝酸盐氮的吸光度 A_2 , 于是亚硝酸盐氮的吸光度则为 $A_1 - A_2$ 。

二、结果和讨论

1. 吸收光谱

分别取适量的硝酸盐或亚硝酸盐标准溶液按实验方法在各个波长下测定吸光度, 所得结果示于图 1。由图 1 可见, 硝酸盐和亚硝酸盐两者的吸收光谱波形非常相似, 且两者的最大吸收均位于 560—565nm 处。由此似可推断, 不论是硝酸盐或亚硝酸盐, 其氧化邻苯氨基苯甲酸后的显色产物, 在组成和结构上是相同的。

试剂空白以水为参比时, 在各个波长下几无吸收。在测定波长下的吸光度值 $A < 0.015$ 。因此, 如当空白的吸光度值大时, 就可判断实验用水或试剂中含有硝酸盐或亚硝酸盐。

2. 酸度的影响

实验所得结果示于图 2。在 10ml 显色液中浓硫酸加入量的范围为: 硝酸盐氮为 6.5—6.8ml; 亚硝酸盐氮为 6.5—6.6ml。此时吸光度达最大值且保持恒定。因此, 实验时我们选用浓硫酸的加入量为 6.5ml。

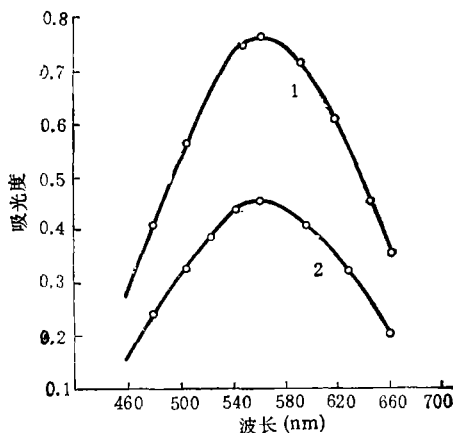


图 1 吸收光谱曲线

1. $\text{NO}_3\text{-N}$ 1.2 $\mu\text{g}/10\text{ml}$ 水作参比
2. $\text{NO}_2\text{-N}$ 1.2 $\mu\text{g}/10\text{ml}$ 水作参比

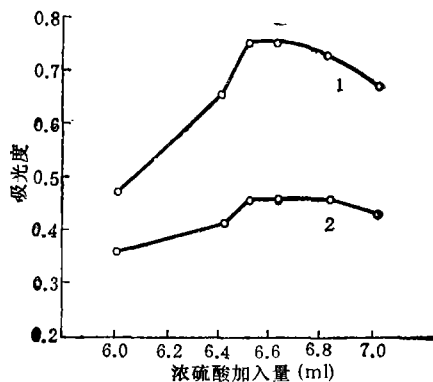


图 2 酸度的影响

1. $\text{NO}_3\text{-N}$ 1.2 $\mu\text{g}/10\text{ml}$ 2. $\text{NO}_2\text{-N}$ 1.2 $\mu\text{g}/10\text{ml}$

3. 显色剂浓度的影响

在其它实验条件不变下, 改变邻苯氨基苯甲酸的浓度, 所得结果示于图 3。图 3 表明, 测定 $\text{NO}_2\text{-N}$ 时, 0.1% 的试剂加入量在 0.4—0.6

ml 范围;测定 NO_3^- -N 时,加入量在 0.4—0.8 ml 范围,其吸光度达最大值且保持恒定。故实验时,我们选择加入量为 0.5ml。

4. 显色温度的影响

在恒温水浴上控制不同温度下,按实验方法显色,所得结果于表 1。由表 1 看出,硝酸盐

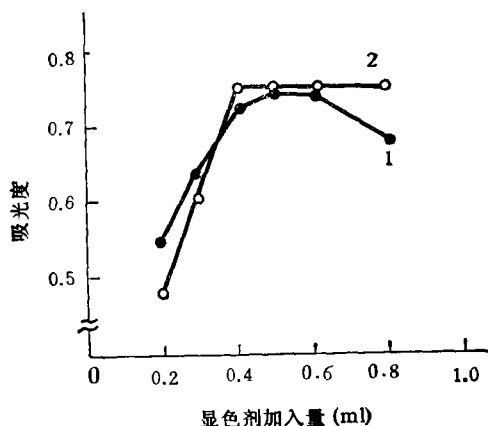


图 3 试剂浓度的影响

1. NO_2^- -N 1.2 $\mu\text{g}/10\text{ml}$ 2. NO_3^- -N 1.6 $\mu\text{g}/10\text{ml}$

表 1 温度对显色的影响

温度 $^{\circ}\text{C}$	吸光度 A	
	NO_2^- -N	NO_3^- -N
13	0.510	0.370
15	0.522	0.378
20	0.531	0.394
25	0.538	0.404
30	0.544	0.407
相关系数 r	0.9634**	0.9661**
回归系数 b	0.00184	0.00222
回归截距 a	0.4911	0.3448

相关系数临界值 $r_{0.05} = 0.878$, $r_{0.01} = 0.959$

和亚硝酸盐均随温度的提高而吸光度增大,且有较好的线性关系。温度每升高 1 度,硝酸盐氮的吸光度约增加 0.00184;亚硝酸盐的吸光度约增加 0.00222。考虑到本法具有高灵敏度,为简化操作手续,故采用室温下显色。标准曲线的绘制与样品的测定同时进行。

5. 试剂加入速度的影响

实验中我们观察到,显色剂加入后,浓硫酸加入的时间间隔不能太长,宜即时加入,且硫酸

加入的速度要快,为此实验时我们选用注射器作为加液工具。

6. 显色溶液的稳定性

按实验方法放置不同时间测定吸光度,所得结果示于图 4。硝酸盐氮和亚硝酸盐氮均能稳定半小时。此后吸光度逐渐缓慢下降。

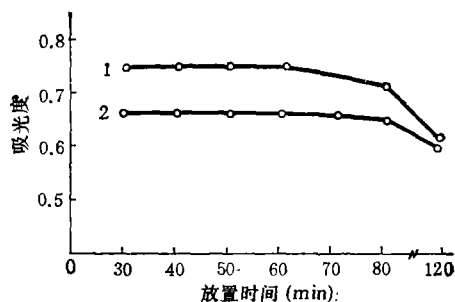


图 4 显色溶液的稳定性

1. NO_2^- -N 1.2 $\mu\text{g}/10\text{ml}$ 2. NO_3^- -N 1.5 $\mu\text{g}/10\text{ml}$

7. 硝酸盐和亚硝酸盐比例的影响

在混合标准溶液中,固定硝酸盐含量,改变亚硝酸盐含量,或者固定亚硝酸盐含量,改变硝酸盐含量,然后按本法测定,实验结果表明吸光度具有良好的加和性。考虑到赣南地表水中硝酸盐氮与亚硝酸盐氮含量大致为 9:1。因此,在配制混合标准溶液时,我们选用

$$\text{NO}_3^- \text{--} \text{NO}_2^- \text{--} \text{N} = 9:1.$$

8. 遵守比尔定律的浓度范围和方法的灵敏度

实验结果表明, NO_2^- -N 浓度介于 0.03—0.15 $\mu\text{g}/\text{ml}$; NO_3^- -N 浓度介于 0.05—0.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内遵守比尔定律。氮浓度与吸光度之间,具有良好的相关性(相关系数分别为: $r_{\text{NO}_2^-} = 0.9991$, 和 $r_{\text{NO}_3^-} = 0.9992$)。在最大吸收波长下的表现摩尔吸光系数分别为: $\epsilon'_{\text{NO}_2^-} = 1.77 \times 10^5$ 和 $\epsilon'_{\text{NO}_3^-} = 1.07 \times 10^5 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

9. 共存离子的干扰及其消除

常见的阳离子如 Ca^{2+} , Mg^{2+} 等呈正干扰,本文采用强酸型阳离子交换树脂,予以除去。阴离子中 SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , HCO_3^- 等均无干扰。测定 NO_3^- 时,氨基磺酸可消除 NO_2^- 的影响。测定 0.6 μg NO_2^- -N 或 0.8 μg NO_3^- -N 时,共存量

表 2 样品回收试验结果

编号	样品来源	样品原含量(μg)		加入氮量(μg)		测得氮量(μg)		回收率(%)	
		NO_3^--N	NO_2^--N	NO_3^--N	NO_2^--N	NO_3^--N	NO_2^--N	NO_3^--N	NO_2^--N
1#	山泉水	0.078	0.011	0.10	0.010	0.185	0.022	107	110
				0.20	0.020	0.287	0.032	105	105
2#	小溪水	0.40	0.036	0.40	0.04	0.82	0.077	105	103
				0.80	0.08	1.19	0.119	99	104
3#	井水	0.91	0.097	1.0	0.10	1.90	0.192	99	95
				2.0	0.20	2.97	0.312	103	107

表 3 方法的精密度考查

编号	样品来源	测定结果的个别值 $x_i(\text{mg/L})$				平均值 $\bar{x}$		标准差 s		相对标准差 $cv\%$	
		NO_3^--N		NO_2^--N		NO_3^--N	NO_2^--N	NO_3^--N	NO_2^--N	NO_3^--N	NO_2^--N
1#	山泉水	0.073	0.081	0.010	0.011	0.078	0.011	0.00367	0.00074	4.70	6.76
		0.083	0.078	0.012	0.011						
		0.074	0.081	0.011	0.012						
		0.075	0.079	0.012	0.012						
2#	小溪水	0.39	0.40	0.036	0.035	0.40	0.036	0.0128	0.0016	3.20	4.45
		0.41	0.38	0.038	0.036						
		0.40	0.41	0.038	0.037						
		0.41	0.38	0.034	0.034						
3#	井水	0.92	0.91	0.094	0.097	0.91	0.097	0.0183	0.00288	2.01	2.97
		0.94	0.90	0.100	0.096						
		0.91	0.88	0.098	0.100						
		0.93	0.91	0.092	0.099						

(以 μg 计) $\text{Cl}^-(2)$, $\text{F}^-(2.5)$, $\text{MnO}_4^-(2)$ 也无影响。超过此量呈正干扰。卤素离子可用硫酸银予以除去。

10. 样品分析

取水样 100ml, 加适量硫酸银溶液(按测得的 Cl^- 含量)混匀后置暗处澄清。如需同时除去悬浮物则加入 2ml 氢氧化铝悬浮液, 之后再加入硫酸银溶液, 混匀, 放置澄清。将上清液通过 732 型阳离子交换树脂柱(柱高 6—8cm, 柱径 1.4cm, 流速 1—2ml/min)。弃去最初流出

的 20ml 后, 准确吸取适量流出液(体积不超过 2.5ml) 于 10 ml 容量瓶中, 按实验方法测定 NO_3^--N 和 NO_2^--N 。所得结果见表 2 和 3。

参 考 文 献

- 1 周天泽等. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 1983, 15: 213
- 2 Marczenko *Crit. Z. Rev. Anal. Chem.* 1981. 11. 227
- 3 马钦科 Z 著; 郑用熙等译. 元素的分光光度测定. 北京: 地质出版社, 1983: 341
- 4 同 3. 第 339 页
- 5 国家环保局. 《水和废水监测分析方法》(第三版) 北京: 中国环境科学出版社, 1989, 第 261—262 页
- 6 沈钟, 邵长生等. 化学学报. 1991, 49(5): 446
- 7 章文贡, 陈田安, 陈文定. 中国塑料. 1988, 2(1): 23
- 8 杨俊华. 塑料科技. 1990, (6): 38
- 9 方宏庄. 重庆环境科学. 1990, 12(2): 44
- 10 吕瑶姣, 张季爽. 塑料科技. 1991, (3): 15
- 11 王振成. 固体废物处理及利用. 西安: 西安交通大学出

(上接第 47 页)

参 考 文 献

10 mine dust samples. AFB₁ and 15 fungal extracts. The results showed that 10 (100%) mine dust, AFB₁ and 5(33.3%) fungal extracts significantly increased the frequency of micronucleated cells in *vicia faba* root tips with a clear dose-effect relationship suggesting that these samples had mutagenic activity and the relevant environmental factors might be responsible for the incidence of lung cancer in the mine area and liver cancer in Fu-shui county. Thus micronucleus test in *vicia faba* root tips proved to be an effective method in the research of environmental mutagens.

Key words: *vicia faba* root tips, micronucleus, mine dust, fungal extracts, mutagenicity.

Study on a Long Life BOD Microbial Sensor. Sun Yusheng, Liu Xianmei et al. (Hebei Institute of Chemical Technology and Light Industry, Shijiazhuang 010050): *Chin. J. Environ. Sci.*, **13**(4), 1992, pp.59—63
A microbial sensor consisting of thin membrane which was prepared by using *Bacillus cereus* cells (isolated from active sludge) immobilized in synthetic polymers and oxygen electrode combined with the sensor were used for the estimation of BOD. The lifetime of the sensor was determined to be more than 16 months. A linear relationship was observed between the relative current decrease and the level of BOD of the standard solution (GGA) in a range of 5—60mg/L. The response time of the biosensor is less than 8 minutes and the average relative error is 1% when an environmental standard sample was used to test the sensor, BOD values determined with the sensor were identical to those determined with the conventional method for the same water samples.

Key words: BOD sensor, BOD electrode, microbial sensor.

Determination of Nitrate-N and Nitrite-N in Surface Water by Highly Sensitive Spectrophotometric Method. Qiu Xingchu, Zhu Yingquan, (Environmental Science Research Institute of Ganzhou Prefecture, Ganzhou 341000, Jiangxi Province), Li Cui-sheng (Forestry Science Research Institute of Ganzhou Prefecture, Ganzhou 341000, Jiangxi Province.): *Chin. J. Environ. Sci.*, **13**(4), 1992, pp. 63—66

The conditions of the reaction of nitrate-N and nitrite-N with N-phenylanthranilic acid (N-PAA) were studied in detail and a highly sensitive spectrophotometric method was developed for the determination of trace amount of nitrate-N and nitrite-N in surface water. Maximum absorptions of both the colour products (N-PAA-NO₃⁻-N and N-PAA-NO₂⁻-N) appeared at wavelengths of 560—565 nm and the corresponding molar absorptivities were found to be 1.07×10^4 (NO₃⁻-N) and 1.77×10^4 L. mol⁻¹ · cm⁻¹ (NO₂⁻-N). Beer's law was obeyed, in a concentration range of 0.03—0.15 µg/ml for NO₃⁻-N and 0.05—0.20 µg/ml for NO₂⁻-N. The interferences of foreign ions were examined and the method has been used to determine NO₃⁻-N and NO₂⁻-N in surface water with satis-

factory results obtained.

Key words: Nitrate-N, nitrite-N, spectrophotometry, N-phenylanthranilic acid, water pollution.

Identification of Spilled Oil at Sea Surface with Fuzzy Maximum Matrix Method. Xu Hengzhen, Li Zongping (Institute of Marine Environmental Protection, SOA, Dalian 116023): *Chin. J. Environ. Sci.*, **13**(4), 1992, pp. 67—69

A Model of fuzzy maximum matrix for the identification of spilled oil at sea surface is established. the concept of fuzzy area of confidence level λ_i for identifying types of oil was introduced. Fuzzy dynamic clustering charts of fourteen common types of oil, two types of weathered oil and oil spill at sea surface are given out. Confidence level λ_i was found to be greatly influenced by weathering. After 30 days weathering, confidence levels for differentiating Ren Qiu Crude oil and 35# heavy diesel oil, from other thirteen types of oil, are in the ranges of $0.99939 > \lambda_i > 0.99725$ and $0.99791 > \lambda_i > 0.99026$, respectively. The method proved to be able to give more accurate result than the fingerprint recognition method.

Key words: fuzzy maximum matrix, fuzzy dynamic clustering chart, oil spills at sea.

Study on Soil Environmental Background Values in Fujian Province. Chen Zhenjin, Chen Chunsui, Liu Yongqing (Fujian Institute of Environment Protection 350003); Wu Yudian, Yang Sunkai, Lu Changyi (Institute of Environment Protection, Xiamen University 361005): *Chin. J. Environ. Sci.*, **13**(4), 1992, pp. 70—75

With the methods of network and systematic layers, 123 typical sampling sections were selected and soil environmental background values for 61 elements were determined in the whole region of Fujian province. The results show that the soil background values for 15 rare-earth elements in Fujian are higher than those in the country, that the background values for sulphophilic and siderophilic elements in Fujian are also higher compared with those of the same elements in the country and that the background value of Se in the soil of Fujian is 0.55mg/kg, 2.5 times as high as the level of the country. The major factors affecting soil environmental background values in the province are analyzed and suggestions for reasonable development of soil resource proposed.

Key words: soil environmental background value, earth elements, Fujian province.

Chemical Speciation and Pollution of Heavy Metals in Rivers, Reservoirs and Waste Water in Urumqi Area. Chen Xibao et al. (Institute of Geography, Academia Sinica Beijing 100012): *Chin. J. Environ. Sci.*, **13**(4), 1992, pp. 75—81

A research on physico-chemical speciation and characteristics of pollution of heavy metals Cd, Zn, Pb and Cu in certain water bodies in Urumqi area was carried out with a view of developing water resource as well as evaluating water quality in this area. The physico-chemical speciation of the heavy metals in water samples were determined by means