

用二苯胺-二苯联苯胺混合试剂 测定海水中硝酸盐*

熊孝先

(中国科学院海洋研究所)

迄今用于测定海水中硝酸盐的方法,主要有三种:(1)番木鳖碱法^[6,10];(2)二苯胺法^[4-6];(3)二苯联苯胺法^[7,8]。另外,二苯联苯胺磺酸钠法^[3]、还原法^[1,2,9]等,也有人用于测定海水中硝酸盐,并且进行了一些研究,但这些方法至今还很少被广泛地应用。

番木鳖碱法灵敏度较高,但试剂的处理和操作手续较繁,而且番木鳖碱有毒,在船上大量应用于测定海水中硝酸盐很不适宜。

二苯胺法操作步骤简单。但此法反应条件难控制,即使严格地遵照反应条件进行反应,也不能得到完全重复的结果^[6]。如果在工作中稍有疏忽,就可能使标准色阶破坏和引起误差^[4]。其次,二苯胺法灵敏度也较低,所以至今亦未被广泛地采用。

二苯联苯胺法操作步骤也很简单,且较二苯胺法灵敏度高,结果的可靠性也较大。可是二苯联苯胺法要求硫酸的纯度太高,目前,文献中介绍的硫酸处理方法^[4,6,11],都难以除去硫酸中氮的氧化物,因此配出的二苯联苯胺(在沸腾的甲苯中重结晶)试剂,常常是深蓝色,所以在实际应用中就受到一定的限制。

大家知道,二苯联苯胺是二苯胺的中间产物。二苯联苯胺法与二苯胺法的原理及操作步骤又基本相同^[7]。这两个方法所存在的缺点,有一些是共同的,但另一些却不是共同的。据推想,如果将二苯胺和二苯联苯胺配成混合试剂,用于测定硝酸盐,是否既能获得单独使用二苯胺的优点,又能获得单独使用二苯联苯胺的优点,既能改进单独使用二苯胺的某些缺点,而又能改进单独使用二苯联苯胺的某些缺点呢?

由上述想法,我们进行了一系列的实验。

实验部分

本实验中显色液吸收曲线系用法制分光光度计(MAROCII型)测得;其余条件试验则使用国产581型光电比色计,620号滤光片,比色槽厚1厘米。

使用试剂:

硫酸为G.R级。恆信化工厂出品。

二苯胺为C.P级。北京化学试剂研究所出品。

二苯联苯胺为C.P级。上海新中化学厂出品。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第292号;
本文蒙梁树权教授和纪明侯先生审阅与提意见,特此致谢。

1. 吸收曲线及所用波长的选择¹⁾

配制一个 50 mg-N/m^3 试样(以下谈到试样或标准等级,凡未特别指出其配法者,均与测定步骤及结果一节中标准等级的配法同),加入 5 毫升用 84% 硫酸配成的二苯胺-二苯联苯胺混合试剂(100 毫升混合试剂中二苯胺和二苯联苯胺总重为 7 毫克;以下简称混合试剂),搅匀内容物。当显色稳定时,选择不同的波长(500—650 $\text{m}\mu$ 之间),分别测其消光值。

由显色液吸收曲线图(图 1)看出,显色液的最大吸收波长约为 600 $\text{m}\mu$ 。

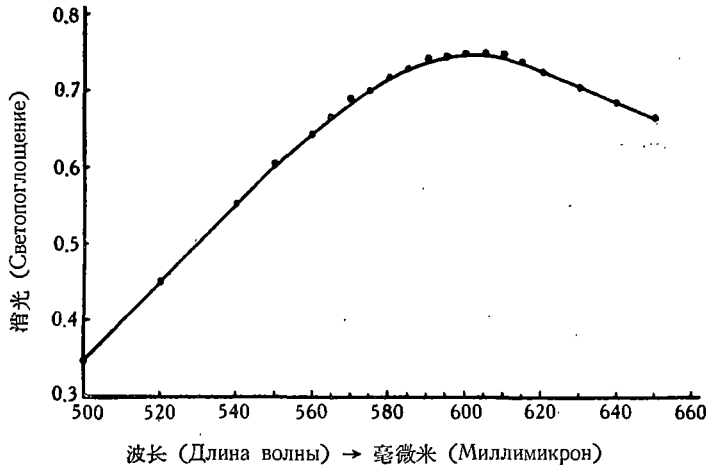


图 1 显色液吸收曲线

Рис. 1 Кривая линия светопоглощения покрашенного раствора

2. 影响反应的几个重要因素

(1) 混合试剂的混合比例

用同一瓶 84% 硫酸,分别以 8:1、4:1、1:1 和 1:4 (重量比)将二苯胺及二苯联苯胺配成混合试剂(总浓度与前节中混合试剂浓度同)。另外,再用上述硫酸分别配制与上述混合试剂浓度相同的二苯胺及二苯联苯胺试剂。

然后配制 15 和 80 mg-N/m^3 试样,各加入 5 毫升二苯胺试剂,搅匀内容物。当显色稳定时,进行比色。与此同时,二苯联苯胺试剂以及上述不同比例的混合试剂也用同样的方法实验。获得的结果列于表 1 中。

表 1 二苯胺和二苯联苯胺的比例与消光的关系

Табл. 1. Зависимость отношения дифениламина и дифенилбензидина от светопоглощения

NO ₃ -N (mg-N/m ³)	1. 试剂 2. 消光	3. 二苯胺	4. 二苯胺:二苯联苯胺 (重量比)				5. 二苯联苯胺
			8:1	4:1	1:1	1:4	
15		0.041	0.100	0.144	0.146	0.149	0.150
80		0.625	0.865	0.993	1.280	1.280	1.450

1. Реактив; 2. Светопоглощение; 3. Дифениламин; 4. Весовое отношение дифениламина и дифенилбензидина; 5. Дифенилбензидин.

1) 这部分工作,承张燕霞和李延两位同志协助,特此致谢。

由表 1 清楚地看出, 使用混合试剂比单独使用二苯胺试剂灵敏度高。但当混合试剂中二苯胺与二苯联苯胺之比为 1:1 时, 灵敏度的增高就不显著了。由此看出, 混合试剂恰当的混合比例为 1:1。但因硫酸中氮的氧化物难以除去, 所以, 以此比例配成的混合试剂, 常常呈现较深的蓝色, 为此, 我们认为 4:1 较适用。

配制两套标准等级, 利用 4:1 混合试剂(浓度与前同)和二苯胺试剂(与 4:1 混合试剂的浓度同), 分别绘制曲线(图 2), 从图上更清楚地可以看出, 前者比后者灵敏度高。

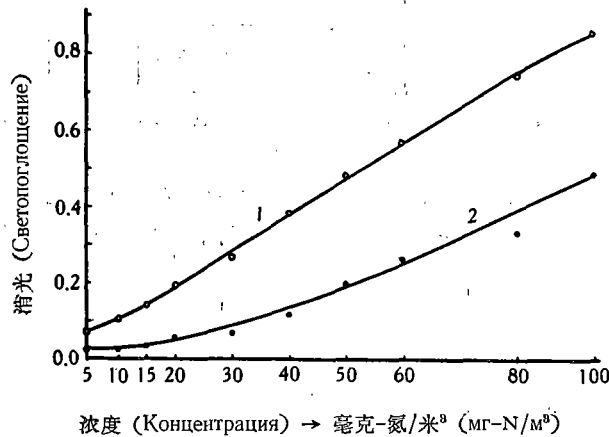


图 2 二苯胺-二苯联苯胺混合试剂(4:1)和二苯胺试剂灵敏度比较
1. 二苯胺-二苯联苯胺混合剂(4:1) 2. 二苯胺试剂

Рис. 2 Сравнение чувствительности смешанного реактива дифениламина и дифенилбензида (4:1) и реактива дифениламина
1. Смешанный реактив дифениламина и дифенилбензида (4:1).
2. Реактив дифениламина.

(2) 混合试剂的浓度

用 84% 硫酸配制含二苯胺和二苯联苯胺总重分别为 2、3、4、5 和 6 毫克, 体积为 100 毫升混合试剂(这里及以下谈到的混合试剂, 其混合比例均系 4:1)。

然后, 配制一个 50 mg-N/m³ 试样, 加入 5 毫升混合试剂(浓度为 100 毫升混合试剂中含二苯胺和二苯联苯胺总重为 2 毫克)。当显色稳定时, 立即比色。与此同时, 其他四种浓度混合试剂, 也用同法实验。

另外, 再用 84% 硫酸配制含二苯胺和二苯联苯胺总重分别为 4、5、6、7、8 和 10 毫克, 体积为 100 毫升混合试剂; 配制一个 100 mg-N/m³ 试样, 以同法实验。

由表 2 结果看出, 含量为 50 mg-N/m³ 试样(体积为 2 毫升), 需加入 5 毫升浓度为 4 毫克(100 毫升试剂中, 含二苯胺和二苯联苯胺的总重量)混合试剂; 含量为 100 mg-N/m³ 试样, 需加入 5 毫升浓度为 7 毫克(100 毫升试剂中, 含二苯胺和二苯联苯胺的总重量)混合试剂。小于上述浓度, 显色就不完全。

用本法测定海水中硝酸盐, 难以避免试剂过量。由于试剂过量, 蓝色消失速度就加快^[4,5]。这是二苯胺法、二苯联苯胺法和本法共同存在的缺点之一。

为了尽量减少试剂过量, 因此, 硝酸盐含量低于 50 mg-N/m³ 水样, 我们用 0—50 mg-N/m³ 标准等级和 100 毫升试剂中含二苯胺和二苯联苯胺总重为 4 毫克混合试剂; 含

表 2 二苯胺-二苯联苯胺混合试剂浓度与消光的关系

Табл. 2. Зависимость концентрации смешанного реактива дифениламина и дифенилбензидина от светопоглощения

NO ₃ -N (mg-N/m ³)	1. 混合试剂 的浓度	3. 100 毫升试剂中二苯胺和二苯联苯胺的总毫克数							
		2	3	4	5	6	7	8	10
50	2. 消 光	0.376	0.450	0.540	0.540	0.538			
100				0.858	0.930	0.975	1.033	1.035	1.040

1. Концентрация смешанного реактива; 2. Светопоглощение; 3. Содержащая общая сумма (Миллиграмм) дифениламина и дифенилбензидина в 100 мл реактива.

量高于 50 而低于 100 mg-N/m³ 水样, 用 0—100 mg-N/m³ 标准等级和 100 毫升试剂中含二苯胺和二苯联苯胺总重为 7 毫克混合试剂 (以下谈到混合试剂的浓度均与此浓度同)。

(3) 混合试剂中硫酸浓度

用 90、87、84、81 和 78% 硫酸分别配制混合试剂; 配制 15 和 80 mg-N/m³ 试样, 在其他条件相同的情况下, 同时进行实验 (实验步骤与 (2) 同)。

由测得的消光值 (表 3) 看出, 混合试剂中硫酸浓度为 84% 时, 显色最深。

表 3 混合试剂中硫酸浓度与消光的关系

Табл. 3. Зависимость концентрации серной кислоты в смешанном реактиве от светопоглощения

NO ₃ -N (mg-N/m ³)	1. 硫酸浓度 (%)	2. 消光				
		90	87	84	81	78
15		0.105	0.155	0.157	0.070	0.054
80		0.369	0.723	0.820	0.747	0.480

1. Концентрация серной кислоты; 2. Светопоглощение.

(4) 温度影响

配制浓度为 40 mg-N/m³ 三个试样。用 5 毫升大肚移液管, 一次量取 5 毫升硫酸浓度为 84% 混合试剂 (以下混合试剂的硫酸浓度与此浓度同), 不沿比色试管壁, 分别加入到上述试样中 (以此法加入混合试剂, 试管中内容物混合速度容易达到基本一致。温度影响, 会基本相同)。搅匀内容物。然后, 分别放于 10、18 和 30°C 恒温下, 每隔 30 分钟测一次消光值, 一直测到蓝色显著消失时止。

不同温度下, 二苯胺和二苯联苯胺在显色液中反应过程, 如图 3 所示。

由图 3 看出, 温度为 10、18 和 30°C 时, 分别于 3、2 和 1 个小时显色达到稳定。但二苯胺法 (沿试管壁加入试剂并在冷却条件下搅拌显色液) 温度为 10、18 和 30°C 时, 分别约需 12、8 和 3 个小时, 显色才能达到稳定²⁾。文献中也提到, 温度在 20°C 时, 5—6 小时

2) 根据熊孝先、华文贞等 1959 年二苯胺法实验结果。

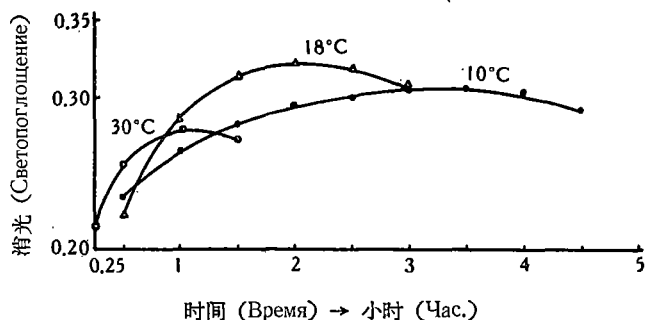


图3 不同温度时二苯胺和二苯联苯胺在显色液中的反应过程
Рис. 3. Ход дифениламинной и дифенилбензидиновой реакций в покрашенном растворе при разных температурах

顏色达到最深^[4]。可見,本法比二苯胺法反应速度快。

另外还可以看出,温度愈高,反应速度愈快,但顏色稳定时间也就愈短;温度低时,虽然反应速度慢,但顏色稳定时间长,这与前人用二苯胺法和二苯联苯胺法指出的温度影响是符合的。

3. 工作曲线

配制标准等级,依次加入 5 毫升混合试剂,搅匀,于室温下,当显色稳定时比色。繪制工作曲线(图 4)。

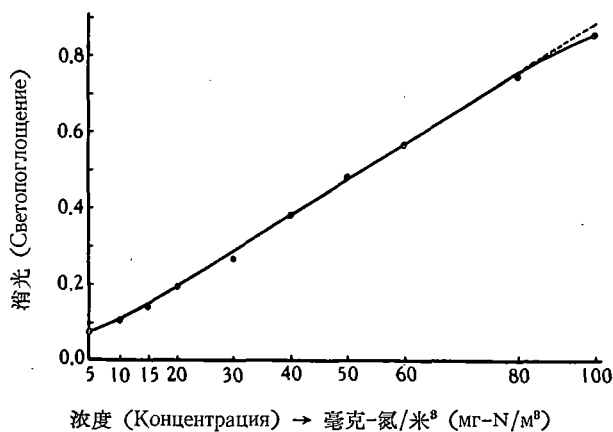


图4 工作曲线
Рис. 4. Кривая линия работы

图 4 所示,硝酸盐含量在約 30 mg-N/m³ 以下时,硝酸氮与消光值成弧形关系,在約 30—80 mg-N/m³ 之間,接近直綫关系。从約 80 mg-N/m³ 开始,曲綫开始下弯,但 100 mg-N/m³ 前,曲綫下弯弧度并不大,有时甚至很不明显。

我們每次分析水样时,都同时繪制工作曲线,这样就避免了曲线不能重現的缺点。

4. 硝酸盐回收試驗

我們采了六个水样,各加入已知量的硝酸盐,进行回收試驗,結果如表 4。

实验証明,硝酸盐的回收是較好的。

表 4 回收結果

Табл. 4. Результаты обратных получений

1. 样品编号	2. 样品中原 NO ₃ -N 含量 (mg-N/m ³)	3. 加入量 (mg-N/m ³)	4. 测得总量 (mg-N/m ³)	5. 回收差额 (mg-N/m ³)	6. 回收量相对 误差(%)
1	11	50	64	+3	6
2	22	50	72	0	0
3	41	30	71	0	0
4	48	20	64	-4	20
5	59	20	75	-4	20
6	6	50	57	+1	5

1. Номер проб; 2. Содержание NO₃-N в пробах; 3. Прибавление NO₃-N; 4. Определённое суммарное количество; 5. Разница обратных получений; 6. Относительные ошибки обратных получений.

5. 海水中硝酸盐的測定

(1) 試剂及其配制

A. 混合試剂

称取 100 毫克二苯胺和 25 毫克二苯联苯胺, 分别溶于 100 毫升和 50 毫升硫酸(接触法制, 比重为 1.84)中, 配成浓二苯胺和浓二苯联苯胺試剂。在洁淨的 100 毫升容量瓶中, 倒入 20 毫升重蒸餾水, 先加入約 50 毫升浓硫酸, 冷却后, 再量入 5.6 毫升浓二苯胺試剂和 2.8 毫升浓二苯联苯胺試剂, 再加浓硫酸至刻綫, 并混合均匀。

浓二苯联苯胺試剂, 常常有很深的蓝色, 混合試剂常常有浅蓝色, 但并不影响分析結果, 可以使用。

如果刚配出的混合試剂顏色就很深, 应当将硫酸預先进行处理, 除去硫酸中氮的氧化物^[10]。

室温高, 混合試剂儲存的时间长, 試剂灵敏度会有明显的降低。在夏季室温下, 可儲存 1—2 天, 如果置于冰箱中, 3—4 天内还較稳定。

B. 硝酸盐标准溶液

I. 硝酸盐基本标准溶液^[4]: 称取 0.361 克分析純硝酸鉀, 加重蒸餾水溶于 500 毫升容量瓶內。为了防止細菌活动, 加 15—20 滴氯仿, 然后加重蒸餾水至刻綫, 浓度为 0.1 mg-N/ml。这种溶液只能儲存半年, 夏季应放在冷处。

II. 硝酸鉀中間标准溶液: 准确地移取 5 毫升硝酸鉀基本标准溶液, 放入 100 毫升容量瓶內。加 3—4 滴氯仿, 然后用重蒸餾水冲稀至刻綫, 浓度为 0.005 mg-N/ml。这种溶液超过 8—10 天就不能使用, 夏天应放在冷处。

III. 硝酸鉀使用标准溶液: 分析前, 临时准确地将硝酸鉀中間标准溶液用无氮海水³⁾稀释 50 倍, 浓度为 0.0001 mg-N/ml, 即 100 mg-N/m³。

(2) 測定步驟及結果

配制标准等級。量取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.6 和 2.0 毫升硝酸鉀使用标准溶液, 依次注入洁淨而干燥的帶磨口塞⁴⁾的各比色試管中。然后在每个比色試管

3) 在夏季, 采硝酸盐含量等于或接近于零值的外海海水, 用 4 号玻璃砂心漏斗过滤后, 即为无氮海水。

4) 严禁用橡皮塞。

(除最后一个外)中,都加无氮海水至 2 毫升。标准等级的浓度依次为 5、10、15、20、30、40、50、60、80 和 100 mg-N/m³。

量取水样各 2 毫升,注入比色试管中。

一次量取 5 毫升混合试剂,不沿比色试管壁,加入到标准等级和水样各比色试管中。用一端带一个膨大球的玻璃管作搅棒,分别搅匀标准等级和样品试管中内容物(从低到高浓度),于室温下(如 10—30℃)使其反应³⁾。当显色稳定时(显色时间随室温不同而异,见图 3),用光电比色计比色。若在船上测定时,可目视比色。

许多氧化物,如亚硝酸盐、三价铁和过氧化物等,与硝酸盐一样都能和二苯胺及二苯联苯胺产生类似的反应。然而,这些氧化物,在海水中大部分含量甚微,只有亚硝酸盐含量较多,应视为主要影响因子。因此,应从硝酸盐测定结果中减去亚硝酸盐含量(关于二苯胺或二苯联苯胺被硝酸盐和亚硝酸盐氧化时所产生的蓝色比例,目前研究者尚无统一的意见。),获得硝酸盐实际含量^[4,6]。这也是本法、二苯胺法和二苯联苯胺法共同的缺点之一。

根据上述测定步骤,我们分析了十二个海水样品,并与二苯胺法^[4]测定的结果(海水样品与前者同)作了比较。结果如表 5。

表 5 二苯胺-二苯联苯胺混合试剂法和二苯胺法测定结果及误差比较

Табл. 5. Сравнение результатов и ошибок, полученных методом смешанного реактива дифениламина и дифенилбензидина и методом дифениламина

1. 样品编号	2. 混合试剂法测定结果 (mg-N/m ³)					3. 二苯胺法测定结果 (mg-N/m ³)				
	4. 双样		5. 平均值	6. 与平均值的偏差		4. 双样		5. 平均值	6. 与平均值的偏差	
	(1)	(2)		(1)	(2)	(1)	(2)		(1)	(2)
1	7	7	7	0	0	0	8	4	-4	+4
2	0	0	0	0	0	12	0	6	+6	-6
3	5	6	6	-1	0	12	8	10	+2	-2
4	19	19	19	0	0	23	24	24	-1	0
5	38	38	38	0	0	37	29	33	+4	-4
6	46	47	47	-1	0	54	49	52	+2	-3
7	51	50	51	0	-1	57	59	58	-1	+1
8	52	53	53	-1	0	73	68	71	+2	-3
9	63	68	66	-3	+2	73	65	69	+4	-4
10	81	81	81	0	0	>100	88	—	—	—
11	66	68	67	-1	+1	73	71	72	+1	-1
12	15	18	16	-1	+2	16	14	15	+1	-1

1. Номер проб; 2. Результаты, полученные методом смешанного реактива; 3. Результаты, полученные методом дифениламина; 4. Параллельные два определения; 5. Средние значения; 6. Отклонения от средних значений.

从表 5 结果看出,应用本法测定海水中硝酸盐,个别测量值与平均值的最大偏差不超过 ± 3 mg-N/m³。而二苯胺法个别测量值与平均值的最大偏差约为 $\pm 4-6$ mg-N/m³。可见本法比二苯胺法精密度为高。

5) 保持实验室内清洁(如勿生煤炉)。

此外,我們又將本法和二苯联苯胺法^[7](用純度高的硫酸配制二苯联苯胺試剂)測定的結果作了比較。从表 6 中看出,两种方法所得到的結果是很相近的。

表 6 二苯胺-二苯联苯胺混合試剂法和二苯联苯胺法測定結果比較

Табл. 6. Сравнение результатов, полученных методом смешанного реактива дифениламина и дифенилбензидина и методом дифенилбензидина

1. 样品编号	2. 混合試剂法測定結果 (mg-N/m ³)	3. 二苯联苯胺法測定結果 (mg-N/m ³)
1	41	42
2	63	61
3	48	42
4	59	58
5	6	5

1. Номер проб; 2. Результаты, полученные методом смешанного реактива; 3. Результаты, полученные методом дифенилбензидина.

本方法可以測定硝酸盐含量不高于 100 mg-N/m³ 的海水样品,高于 100 mg-N/m³ 者,需用无氮海水稀释后,再进行測定。

結 語

通过实验我們建立了用二苯胺-二苯联苯胺混合試剂測定海水中硝酸盐的方法。測定了显色液吸收曲綫;研究了影响反应的几个重要因素(混合試剂中二苯胺与二苯联苯胺的比例、混合試剂的浓度、混合試剂中硫酸浓度、温度);又与二苯胺法及二苯联苯胺法測定海水中硝酸盐的結果作了比較。初步看出,本法的灵敏度和精密度都比二苯胺法为高,反应速度比二苯胺法快,并且試剂較二苯联苯胺法容易配制。

1962—1963 年我們在胶州湾海洋調查研究工作中和 1963—1964 年在东海海洋調查研究工作中,应用了这个方法。証明它不仅在地实验室内行之有效,而且也很适用于船上測定。

参 考 文 献

- [1] 莫金垣等, 1962. 海水中硝酸盐的測定. 海洋与湖沼 4(1—2):98.
- [2] 孙秉一等, 1961. 海水中硝酸盐的測定. 山东海洋学院学报 1961 年 (1):68—77.
- [3] 李 延, 1963. 用二苯联苯胺磺酸钠測定海水中硝酸盐的研究. 海洋与湖沼 5(2):115—123.
- [4] 苏联国立海洋研究所, 1955. 海水化学分析指导. 姜康后等译. 科学出版社, 155—169 页.
- [5] Трофимов, А. В., 1936. Фотометрическое изучение дифениламинной реакции для определения малых количеств нитратов в воде. ЖПХ., 9(4):756—771.
- [6] Исаева, А. Б., 1956. К методике определения нитратов в морской воде дифениламинным методом при помощи фотоэлектрического колориметров. Тр. Ин-та Океанол. АН СССР, 19:304—311.
- [7] Коинов, В. А., 1962. К методике определения нитратов и аммиака в морской воде. Тр. Ин-та океанол. АН СССР, 54:123.
- [8] Barnes, H., 1959. Apparatus and methods of oceanography, Part one: Chemical George Allen & Unwin Ltd. (London), 341pp.
- [9] Mullin, J. B. and J. P. Riley, 1955. The spectrophotometric determination of nitrate in natural water with particular reference to sea water. Analyst. Chim. Acta, 12:464—480.
- [10] Harvey, H. W., 1926. Nitrate in the sea. J. Mar. Biol. Ass. U. K., 14:71—88.
- [11] Ramachandran, B. V., 1948. Preparation of nitrogen-free sulphuric acid. Nature, 162(4116):450.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРАТОВ В МОРСКОЙ ВОДЕ СМЕШАННЫМ РЕАКТИВОМ ДИФЕНИЛАМИНА И ДИФЕНИЛБЕНЗИДИНА

Сюан Сяо-сынъ

(Институт океанологии АН Китая)

Предложена новая методика по определению нитратов в морской воде смешанным реактивом дифениламина и дифенилбензидина. Ход определения описан в следующем:

В чистых сухих пробирках готовят стандартные шкалы безнитратной морской водой по 2 мл с концентрациями 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80 и 100 мг-N/М³. Приливают пробы воды по 2 мл. Затем в каждую пробирку с пробой или шкалом (причём не по её стенке) прибавляют смешанный реактив дифениламина и дифенилбензидина (весовое отношение дифениламина и дифенилбензидина равно 4:1) по 5 мл, содержащий дифениламин и дифенилбензидин в 7 мг в 100 мл реактива, и приготовленный с 84% H₂SO₄. Перемешивают и поддерживают их при комнатной температуре 10—30°C до развития устойчивой окраски (см. рис. 3). После этого, производят колориметрирование с помощью фотоэлектрического колориметра и светофильтра 600 мμ (см. рис. 1) или визуальное колориметрирование.

Данный метод удобно применяется для определения нитратов в пробах, содержащих меньше 100 мг-N/М³.

Если концентрация нитратов больше 100 мг-N/М³, то определение надо производить после разбавки пробы безнитратной морской водой.

Максимальное отклонение значений отдельного измерения от среднего значения по этой методике не больше ± 3 мг-N/М³ (см. табл. 5).

Результаты показывают, что данный метод не только ускоряет скорость реакции (см. рис. 3), повышает чувствительность (см. табл. 1 и рис. 2) и воспроизводимость (см. табл. 5) по сравнению с методом дифениламина, но и позволяет легче готовить реактив по сравнению с методом дифенилбензидина.

Практическая работа ещё показывает, что этот метод удобен пользоваться как в лаборатории суши, так и на судне.