

应用 BSPB 测定海水中硝酸盐的进一步研究*

李 延

(中国科学院海洋研究所)

海水中营养要素硝酸盐的测定方法, 长期来一直是化学海洋学中一个较难解决和颇为关注的研究课题。

本文作者(1963)^[1]曾制成一新试剂—— $\left(\text{HO}_3\text{S}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}(\text{H})-\text{C}_6\text{H}_4-\right)_2$, 即 N, N'-双(对磺苯基)联苯胺, 或二钠盐 [N, N'-bis (p-sulphophenyl) benzidine (or disodium salt), 简称 BSPB], 亦即二苯基联苯胺二磺酸钠 (此名磺基定位不确切, 故以本文命名为妥), 并用于比色测定海水中硝酸盐。此法原理为: 硝酸盐于硫酸介质中及氯离子存在下, 可将 BSPB 氧化为醌型 BSPB 紫, 进行比色测定。

本文系在使用的的基础上, 对方法条件做了改进, 使本法更为稳定可靠、简便快速, 适用于大批海水样品的分析。同时, 对 BSPB 试剂进行了精制; 对其溶液的性质也做了一些研究。

近年来, 据国外文献报道, 多采用镉或镉齐的异相还原法^[5,7,8,10,11], 将海水中硝酸盐还原为亚硝酸盐, 再进行偶氮化比色测定。其中, 以 Wood 等(1967)^[10]推荐的铜镉齐还原法为主。还原法具有亚硝酸盐偶氮化显色反应灵敏、稳定的优点, 但还原剂的制备及还原手续比较麻烦。目前, 国内外使用的方法不尽相同^[2,3,9]。因此, 本文提出的利用硝酸盐氧化性的直接氧化比色法, 用以测定海水中的硝酸盐, 是这种方法研究的进一步发展。

一、试剂的精制及其溶液性质

1. 制备原理 按前文(1963)^[1]方法, 以苯基-对磺苯基胺钠盐—— $\text{C}_6\text{H}_5-\text{N}(\text{H})-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3\text{Na}$

(亦即二苯胺磺酸钠, 同理, 磺基定位不确切以本文命名为妥) 为原料, 于硫酸溶液中使其先氧化成 BSPB, 进而氧化成 BSPB 紫。因第一步为不可逆反应, 第二步为可逆反应, 故可用还原方法, 将 BSPB 紫还原为 BSPB, 然后用中和盐析等手续制取 BSPB 二钠盐。

因前文所制产物常含有水不溶物杂质, 本文在制备过程中, 进行了重结晶精制处理, 从而提高了试剂的纯度。

2. 精制方法 溶解 20g 苯基-对磺苯基胺钠于 400 ml 10% 硫酸中, 在搅拌下滴加 80ml 10% 重铬酸钾溶液, 得紫色溶液。放置 5 分钟后, 在搅拌下慢慢加入饱和亚硫酸钠

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 471 号; 本文承梁树权教授审阅指导, 作者特致谢忱。
本刊编辑部收到稿件日期: 1977 年 10 月 8 日。

溶液,加至溶液变为稳定的棕褐色为止。再放置 5 分钟,于水浴上蒸发,除去过量的亚硫酸根,直至无二氧化硫气味。用适量水溶解析出物,待冷却后滴加 30% 氢氧化钠溶液,仔细调节溶液 pH 至 3—4,溶液中即析出灰褐色粉末状产物。于搅拌下再加入氯化钠细粉,加至后者不溶即可。放置半小时,倾出母液和粉状产物,弃去氯化钠固体,母液和产物离心分离(转速 2,000/分以上),倾去母液,得固体。此固体常含水不溶物,故再以适量 10% 硫酸溶解,于水浴上蒸发浓缩,至析出糊状物,冷却后离心分离(如仍有水不溶物,可再以 10% 硫酸溶解重结晶一次)。糊状物用饱和氯化钠溶液洗涤,并以 10% 氢氧化钠溶液仔细调节 pH 至 3—4,离心后用饱和氯化钠溶液洗涤至分离液清澈为止。再以 50% 乙醇洗 4—5 次,然后用 80% 乙醇洗至无氯离子。最后用 80% 乙醇移出,在水浴上蒸干,研成细粉,在 50℃ 下干燥。

产物曾经碳、氢、氮、硫元素分析¹⁾,其原子简单比数 C:H:N:S 为 12:9:1:1,与 BSPB 分子式中的一致。

3. 溶液性质 所制 BSPB 二钠盐,可分散于水中,呈胶体溶液。若加入氯化钠或氢氧化钠溶液,则产生絮凝现象;而加入氢氧化铵或铵盐(如硫酸铵、氯化铵、醋酸铵、碳酸铵)溶液,则会使胶体溶液澄清。试验证明,其中以硫酸铵稀溶液配制的 BSPB 试剂最为稳定,长期放置不产生沉淀或变色。故 BSPB 在使用时,以 5% 硫酸铵溶液配制为宜。

此外,若有少量甲醛存在时,显色液不呈紫色,而呈桃红色(可能为还原产物,并在加热下,桃红色则很快变为较稳定的亮黄色)。氯仿、乙醇、乙醚及丙酮均无此反应。由此,可选用氯仿作为保存样品的固定剂。

二、测定硝酸盐方法条件的改进

1. 仪器与器皿 国产 72 型分光光度计,1cm 比色槽。长 9cm、直径 1.6cm 的具塞玻璃试管,洗净烘干使用。一端有圆球的玻璃棒。

2. 硝酸钾溶液 称取 0.361g 硝酸钾于 110℃ 下烘干 1 小时,以蒸馏水配入 500ml 容量瓶中,浓度为 100 mgNO₃⁻·Nl⁻¹。实验中,吸取一定量以无氮海水配成 0—100μgNO₃⁻·Nl⁻¹ 的所需溶液。

3. 方法条件实验

(1) 酸度选择与显色剂用量: 硫酸浓度是影响显色反应的重要条件,但直接采用浓硫酸同水样混合(如前文),则会产生剧烈的放热反应。为此,先将浓硫酸稀释至不同浓度,各取 5ml 注入盛有 2ml 水样的试管中(加入 1 滴 0.4% 显色剂溶液),进行酸度条件试验。由表 1 可见,采用 4:1 硫酸溶液,显色反应比较灵敏。

在 5ml 4:1 硫酸与 2ml 水样的试液中,分别加入 1 滴(约 0.05ml) 不同浓度的显色剂,混合显色后,结果如图 1 所示。由图 1 可见,1 滴 0.3% 的显色剂即可使反应达到完全。为保证反应完全,可用 0.4% 浓度。最大吸收波长为 570nm。

(2) 显色液的稳定性: 如图 2 所示,在显色过程中,显色液色度不易稳定。

1) 中国科学院有机化学研究所代为元素分析,特此致谢。

表 1 硫酸浓度影响

H ₂ SO ₄ :H ₂ O	消 光 (E)		
	10 μ gNO ₃ -Nl ⁻¹	40 μ gNO ₃ -Nl ⁻¹	80 μ gNO ₃ -Nl ⁻¹
6:4(3:2)	0.074	0.084	0.090
7:3	0.084	0.152	0.264
8:2(4:1)	0.087	0.359	1.030
9:1	0.067	0.359	1.030
(3:2.5) ¹⁾	0.100	0.321	0.720

1) 为 3 ml 水样中加入 2.5 ml 浓硫酸

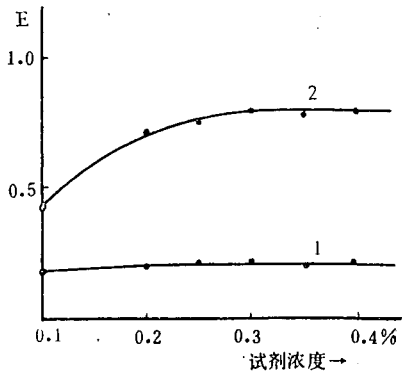


图 1 采用不同浓度的试剂与消光的关系
1—40 μ gNO₃-N l⁻¹; 2—80 μ gNO₃-N l⁻¹

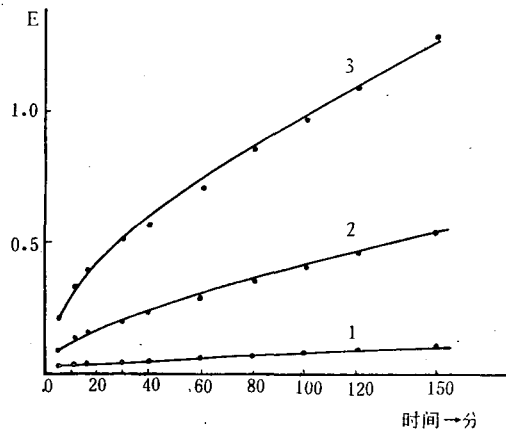


图 2 显色时间与消光的变化
1—10 μ gNO₃-N l⁻¹; 2—40 μ gNO₃-N l⁻¹;
3—80 μ gNO₃-N l⁻¹

对此现象, Kolthoff 等 (1933)^[6] 曾解释为: 硝酸盐在反应中被还原生成一氧化氮, 一氧化氮部分又被试液中溶解氧氧化为二氧化氮, 使试液中过剩的试剂氧化显色。二氧化氮又还原为一氧化氮。如此循环, 显色液色度不断加深。

为抑制这一作用, 本文作了外加还原剂试验。即在显色后一定时间(约 25 分钟)加入硫代硫酸钠、亚硫酸钠、盐酸羟胺、硫酸肼等还原剂, 发现硫酸肼对显色液颜色有稳定作用(见图 3)。稳定时间约 8 小时左右。而其他还原剂均有退色作用。

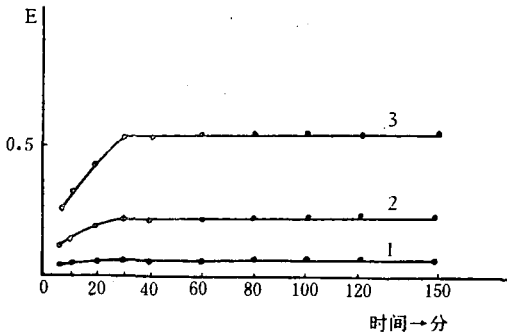


图 3 显色液稳定前后时间与消光的变化
1—10 μ gNO₃-N l⁻¹; 2—40 μ gNO₃-N l⁻¹; 3—80 μ gNO₃-N l⁻¹

此实验与 Armstrong (1963)^[4] 的研究结果一致。

(3) 灵敏度: 为提高显色反应的灵敏度, 通过加入微量锰(II)、铁(II)、铜(II)等离子(均为硫酸盐)的试验, 发现铜(II)离子可提高灵敏度。根据表 2 实验, 可选取 0.05 ml 0.005M 硫酸铜溶液。图 4 为 0—100 $\mu\text{gNO}_3\text{-NI}^{-1}$ 的 E-C 曲线, 10 $\mu\text{gNO}_3\text{-NI}^{-1}$ 以上线性关系尚好。

表 2 硫酸铜用量试验

硫酸铜浓度 (M) ¹⁾		不加	2.5×10^{-4}	5.0×10^{-4}	2.5×10^{-3}	5.0×10^{-3}	2.5×10^{-2}	5.0×10^{-2}
消光	空白液	0.024	0.024	0.029	0.034	0.038	0.080	0.116
(E)	10 $\mu\text{gNO}_3\text{-NI}^{-1}$ 试液	0.054	0.058	0.061	0.075	0.091	0.164	0.295

1) 取 0.05ml 不同浓度的硫酸铜溶液, 加入 2 ml 空白液和试液中

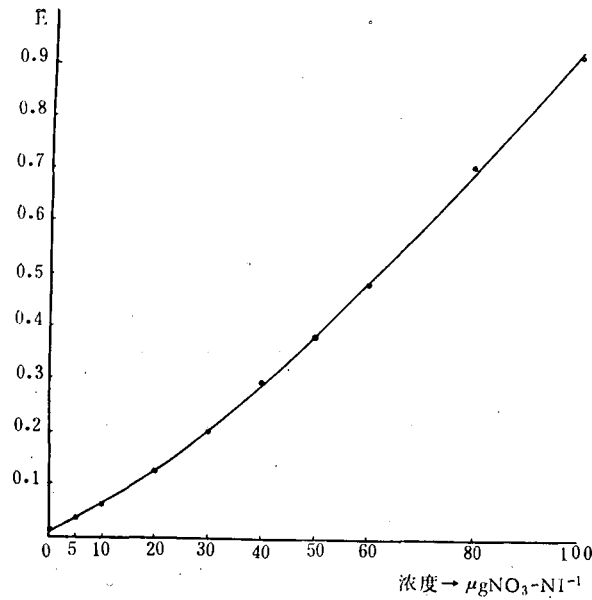


图 4 E-C 曲线

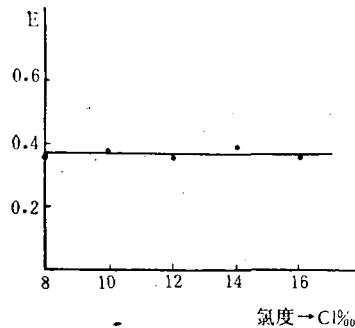


图 5 样品 (含 $50 \mu\text{gNO}_3\text{-NI}^{-1}$) 不同氯度与消光的关系

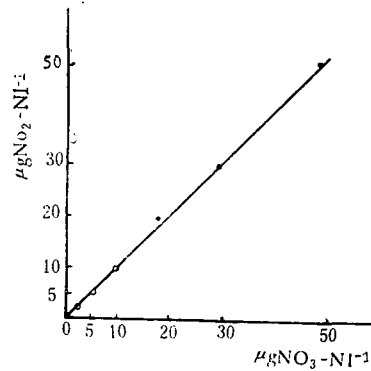


图 6 加入无氮海水中已知的亚硝酸盐含量与用本法测定后相当于硝酸盐含量的关系

(4) 氯度的影响: 用无氮海水稀释成不同氯度的溶液, 分别配成 $50 \mu\text{gNO}_3\text{-Nl}^{-1}$ 浓度的溶液进行测定。结果见图 5。Cl‰ 变化在 8—16 之间, 对反应灵敏度无明显影响。因此, 若用与样品氯度差异不大的无氮海水配制硝酸钾标准系列, 对样品测定结果应无影响。

(5) 亚硝酸盐的影响: 亚硝酸盐亦可与 BSPB 起显色反应。由图 6 实验可见, 海水样品中若含有亚硝酸盐, 测得的硝酸盐含量可扣除亚硝酸盐含量加以校正。

(6) 回收实验: 向海水样品加入已知量硝酸钾, 按以上方法条件做回收测定。结果如表 3。在 $10\text{—}100 \mu\text{gNO}_3\text{-Nl}^{-1}$ 的测定范围内, 平均误差为 4%。

表 3 海水中硝酸盐的回收测定

加入已知 KNO_3 浓度 ($\mu\text{gNO}_3\text{-N l}^{-1}$)	测定含量 ($\mu\text{gNO}_3\text{-Nl}^{-1}$)		海水中原有含量 ($\mu\text{gNO}_3\text{-Nl}^{-1}$)	回收含量 ($\mu\text{gNO}_3\text{-Nl}^{-1}$)	误差 %
	双 样	平 均 值			
10	14 13	14	3	11	+10
20	22 22	22	3	19	- 5
30	31 31	31	3	28	- 7
40	43 41	42	2	40	0
50	58 57	58	6	52	+ 4
60	61 64	63	3	60	0
70	72 73	73	6	67	- 4
80	82 80	81	3	78	- 3
80	79 79	79	0	79	- 1
100	97 96	97	3	94	- 6

三、硝酸盐的测定方法

1. BSPB 显色剂 (0.4%): 称取 1.0g BSPB 二钠盐, 用 0.5% 硫酸铵溶液配成 250 ml。
2. 硫酸铜溶液 (0.005M): 称取 0.31g 五水合硫酸铜, 用蒸馏水配成 250 ml。
3. 硫酸肼溶液 (0.05M): 称取 1.63g 硫酸肼, 用蒸馏水配成 250 ml。
4. 硫酸溶液 (4:1): 4 体积浓硫酸加入 1 体积蒸馏水中。浓硫酸试剂如含氧化性杂质, 可按每 1 浓硫酸加入 5g 氯化铵和 50ml 1% 硫代硫酸钠溶液, 加热处理, 直至硫酸清澈为止, 慢慢冷却后即可使用。
5. 硝酸钾标准溶液: 同上述方法条件改进实验硝酸钾溶液的配制。配成 5、10、20、30、40、50、60、80、100 $\mu\text{gNO}_3\text{-Nl}^{-1}$ 的标准系列。
6. 测定步骤: 吸取标准系列各 2.0 ml 注入干净试管中, 依次加入 0.05 ml 0.005 M 硫酸铜溶液及 5ml 4:1 硫酸溶液, 并滴加 1 滴 0.4% 显色剂溶液, 混匀, 将试管塞住。显色 25 分钟后, 再向试管中各滴加 1 滴 0.05 M 硫酸肼溶液, 混匀。于波长 570 nm, 用 1cm 比色槽进行比色, 绘制工作曲线。

海水样品同于标准系列步骤测定。

四、总 结

1. 本法特点: (1) 采用硫酸肼稳定显色液, 效果良好; (2) 外加微量二价铜离子, 提

高了方法灵敏度,可测至 $1\mu\text{g NO}_3\text{-N l}^{-1}$ (硫酸铜亦可按相应浓度直接配在 4:1 硫酸中一起使用,简化测定步骤);(3) BSPB 试剂的硫酸铵溶液很稳定,可长期使用。

2. 本法曾于 1966 年东海调查时试用过,得到比较满意的结果。

3. BSPB 二钠盐试剂得到精制,并研究了其溶液性质,以便对其制备和应用。

4. 本法条件改进结果,克服和避免了如番木鳖碱法和二苯胺法等其他直接氧化比色法中的显色不稳等因素。

参 考 文 献

- [1] 李 延, 1963. 用二苯基联苯胺二磺酸钠测定海水中硝酸盐的研究. 海洋与湖沼 5(2):115—123.
- [2] 陈国珍主编, 1965. 海水分析化学. 科学出版社, 140—166 页.
- [3] 国家海洋局编, 1975. 海水化学要素的测定. 海洋调查规范, 第三分册, 46—49 页.
- [4] Armstrong, F. A. J., 1963. Determination of nitrate in water by ultraviolet spectrophotometry. *Analyt. Chem.* 35(9):1292—1294.
- [5] Brewer, P. G. and J. P. Riley, 1965. The automatic determination of nitrate in sea water. *Deep-Sea Research* 12:765—772.
- [6] Kolthoff, I. M. and G. E. Noponen, 1933. Diphenylamine sulfonic acid as a reagent for the colorimetric determination of nitrate. *J. Am. Chem. Soc.* 55:1448—1453.
- [7] Mitsuko, A. (安部 美津子), Kasiwara, J. (梶原纯子), Yoshihara, T. (吉原仁夫), and K. Sugawara (菅原健), 1975. Preparation of the standard solutions of nitrate and their application to seawater and freshwater. *J. Oceanog. Soc. Japan* 31(2):85—92.
- [8] Morris, A. W., and J. P. Riley, 1963. The determination of nitrate in sea water. *Anal. Chim. Acta.* 29:272—279.
- [9] Riley, J. P., 1975. Analytical chemistry of sea water. In “Chemical Oceanography” (J. P. Riley and G. Skirrow, eds), 2nd edition, vol. 3, Chapter 19. Academic Press INC (London) Ltd. 564 pp.
- [10] Wood, E. D., Armstrong F. A. J. and F. A. Richards, 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 47(1):23—32.
- [11] Исаева, А. Б. и А. Н. Боговявленский, 1968. Определение нитратов в морской воде восстановлением их до нитритов при помощи амальгамированного кадмия. *Океанология* 8 (3):539—545.

FURTHER STUDIES ON THE DETERMINATION OF NITRATE IN SEA WATER WITH BSPB*

Li Yan

(*Institute of Oceanology, Academia Sinica*)

ABSTRACT

In this paper a simple rapid colorimetric method for determining the nitrate in sea water with BSPB [N, N'-bis (p-sulphophenyl) benzidine disodium salt] is recommended. It was developed by further improving the conditions reported in the previous paper published in 1963 by the author^[1], and was shown to be more stable, sensitive and suitable for the routine analysis of sea water.

The procedure of the determination is as follows: to 2 ml of sea water sample add 0.05 ml of 0.005 M CuSO₄ solution, 5 ml of H₂SO₄ (4:1) and 1 drop of 0.4% BSPB solution, mix, and allow to develop for 25 min. Then add 1 drop of 0.05 M hydrazine sulphate solution and submit to colorimetric determination after thoroughly mixing. The measurable range of the determination is from 1 to 100 μg NO₃-Nl⁻¹ with an average error 4%. This method has been tested in the oceanographic research of the East China Sea in 1966.

Studies were also carried out on the purification of BSPB by recrystallization and some properties of its solution.

* Contribution No. 471 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.