

两种比色法检测水体中微量氨含量的比较研究

王佳敏¹, 李涵¹, 张文凯², 刘承上³, 刘宝良¹, 孙华宇¹, 张其坤^{1,*}

¹ 山东师范大学化学化工与材料科学学院, 化学国家级实验教学示范中心, 济南 250014

² 邯郸市第一中学, 河北 邯郸 056001

³ 山东师范大学附属中学, 济南 250014

摘要: 氨氮含量的高低是衡量湖泊和水库水体富营养化的指标之一, 水体中的氮元素极易诱发水体富营养化。目前, 国标中通过比色法来检测氨氮含量的方法主要有靛酚蓝分光光度法和纳氏试剂分光光度法。根据高等教育国家标准中对于培养大学生的创新实践、科研意识、实验动手能力的要求, 依照检测水体中氨氮含量的国家标准, 检测了济南市区内三大名泉(趵突泉、黑虎泉、五龙潭)、大明湖、聊城东昌湖以及天津海河的水体样品中的氨氮浓度, 并把山东师范大学的生活自来水作为对比样品, 比较了比色法检测水体中氨氮含量的两种检测方法的差异。更重要的是, 学生从检测过程中的得失领悟到了采用比色法检测、分析样品的方法技巧。结果表明, 通过不断地完善检测方案, 两种方法的标准曲线相关系数均达到0.9999以上。在实验操作中, 由于操作过程和操作手法的不同(例如显色剂浓度、标准溶液的取用技巧以及各溶剂混合之后放置时间的长短等), 获得了不同的实验结果, 对实验结果的异常现象出现的原因进行了分析, 同时讨论了两种检测方法的不同。

关键词: 靛酚蓝法; 纳氏试剂法; 比色法; 氨氮含量; 吸光度

中图分类号: G64; O6

Comparison of Two Colorimetric Methods for the Determination of Trace Ammonia in Water

WANG Jiamin¹, LI Han¹, ZHANG Wenkai², LIU Chengshang³, LIU Baoliang¹, SUN Huayu¹, ZHANG Qikun^{1,*}

¹ Chemical National Experimental Teaching Demonstration Center, College of Chemistry, Chemical Engineering and Materials Science, Shandong Normal University, Ji'nan 250014, P. R. China.

² Handan No. 1 High School, Handan 056001, Hebei Province, P. R. China.

³ Affiliated Secondary School of Shandong Normal University, Ji'nan 250014, P. R. China.

Abstract: The level of ammonia nitrogen source is one indicator of eutrophication of lakes and reservoirs. Currently, indigo phenol blue spectrophotometry and Nash reagent spectrophotometry have been adopted to detect the $\text{NH}_3\text{-N}$ content in national standard of the People's Republic of China. To cultivate college students' innovative practice, scientific research consciousness and experimental hands-on ability, the ammonia nitrogen concentration in the water samples of three famous springs (Baotu Spring, Heihu spring, Wulong pool), Daming Lake, Dongchang Lake and Haihe river was tested. Taking the drinking water from Shandong Normal University for comparison, the differences between the two methods were studied. More importantly, the students learned from the success and failure in the testing process that they used the colorimetric method to detect and analyze samples. The correlation coefficients of

收稿: 2018-07-26; 录用: 2018-08-19; 网络发表: 2018-09-05

*通讯作者, Email: zhangqk@sdsu.edu.cn

基金资助: 山东师范大学本科生科研基金项目(2017BKSKY49, 2018BKSKY54); 大学生创新训练计划项目(20181501); 山东师范大学教学改革项目: 工程教育认证背景下化学工程与工艺专业建设与教学改革新探索

the standard curves of the two methods reached up to 0.9999 through continuous improvement of the detection scheme. In the experimental operation, different experimental results have been obtained due to the variation of operation and manipulation (such as the concentration of chromogenic agent, the operation skill of the standard solution and the length of the time after the mixing of each solvent etc.). This paper analyzes the causes of the outlier in the experimental results, and discusses the difference of two detection methods.

Key Words: Indophenol blue spectrophotometry; Nessler's reagent method; Colorimetric method; Ammonia nitrogen concentration; Absorbance

水环境恶化已经成为当今世界水资源的三大问题之一。随着工农业生产的发展、城镇的扩增、人口的增多,人类对水的需求量日益增加,同时也使废水排放量增加。未经处理的废水会使某些有害物质进入水体,引起天然水体发生物理和化学上的变化,使水质变坏,即水体受到污染^[1,2]。目前,富营养化已经成为全球水体污染的主要病症。其中,引起水体富营养化从而导致水中生态失衡的最根本因素之一就是氮元素的过量输入。与氮元素相关的水质指标有氨氮、硝态氮、亚硝态氮、总氮等^[3],水体中这些指标的超标均会引发水体富营养化。氨氮($\text{NH}_3\text{-N}$)是水体富营养化的重要因素,水中的氨氮以游离氨(NH_3)和离子氨(NH_4^+)形式存在,是污染水处理中的主要去除对象。氨氮含量较高时,会对水生动物产生很强的神经性毒害,对人体也有不同程度的危害。例如,水体中的分子氨浓度过高时会使鱼虾产生毒血症,长期的氨浓度偏高则将影响水生物的生长繁殖,严重的将中毒至死,被人食用后会对人体产生刺激^[4-7]。国际上一般认为,总氮浓度为 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 是水体富营养化的发生浓度。我国的《地表水环境质量标准》也规定,地表水氨氮和总氮浓度的 1 类标准限值分别为 0.15 和 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[8]。由此可见,研究水体氮元素含量对控制水体富营养化进而平衡水质生态具有重大意义,培养相关专业的学生熟练掌握水质中总氮浓度,特别是氨氮浓度的准确检测方法非常重要。

大明湖素有“泉城明珠”的美誉,与趵突泉、千佛山并称为济南三大名胜。2009 年,大明湖荣膺中国世界纪录协会“中国第一泉水湖”称号。东昌湖与杭州西湖、南京玄武湖并称“全国三支市内名湖”,素有“南有西湖,北有东昌”之称,是江北水城的一颗璀璨明珠。海河是中国华北地区的最大水系,中国七大河流之一。海河也是我国从“八五”到“十一五”期间持续大力投资、重点治理水污染的三河(淮河、辽河、海河)之一。目前,国标中通过比色法来检测氨氮含量的方法主要有靛酚蓝分光光度法和纳氏试剂分光光度法^[5-7]。本文采用这两种方法检测了趵突泉、黑虎泉、五龙潭、大明湖、聊城东昌湖以及天津海河的水体样品中的氨氮浓度,比较了两种检测方法的差异,总结了采用比色法检测、分析样品氨氮含量的方法技巧。

1 实验仪器与药品

1.1 实验仪器

具塞比色管, $6 \times (5-10) \text{ mL}$, 北京玻璃集团公司; 紫外-可见分光光度计 UV-2600 (日本岛津), 自动波长, 可测波长范围 $185-1400 \text{ nm}$, 光谱带宽 $0.1-5 \text{ nm}$; eppendorf 移液枪(德国艾本德), 规格 $100-1000$ 、 $10-200$ 、 $2-10 \mu\text{L}$ 等; 电动便携式移液器(Pipet-Aid, 美国 drummond), 兼容 $1-100 \text{ mL}$ 移液管。

1.2 实验药品、试剂

本实验所用的试剂、药品均为分析纯,从试剂公司购得后未经纯化处理直接使用,其中硫酸、柠檬酸钠、氢氧化钠、次氯酸钠、硫代硫酸钠、酒石酸钾钠为国药集团化学试剂有限公司产品;水杨酸购自天津希思思生化科技有限公司;亚硝基铁氰化钠为天津市光复精细化工研究所产品;氯化铵、淀粉分别购自天津市广成化学试剂有限公司和天津市科密欧化学试剂有限公司;碘化汞和碘化钾分别为上海试剂四厂和上海润捷化学试剂有限公司产品,本实验所用水为无氨重蒸水。

2 实验过程

2.1 配制溶液

国标中通过比色法来检测氨氮含量的方法主要有靛酚蓝分光光度法^[9]和纳氏试剂分光光度法^[10]。前者的检测原理是氨吸收在稀硫酸中,在亚硝基铁氰化钠及次氯酸钠存在的条件下,与水杨酸生成蓝绿色的靛酚蓝染料,根据着色深浅,比色定量^[11];后者的检测原理是在强碱溶液中氨(或铵)能与纳氏试剂(碘化钾的强碱溶液)反应生成黄棕色(或淡红棕色)胶体化合物,此颜色在较宽的波长范围内具有强烈吸收,通常使用 410–425 nm 范围波长光比色定量^[11]。两种方法所用到的溶液的配制方法如下:

① 吸收液($c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$): 量取 2.8 mL 浓硫酸加入水中,并稀释至 1 L,此时硫酸浓度为 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。临用时再稀释 10 倍即为所需浓度。

② 水杨酸溶液($50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$): 称取 10.0 g 水杨酸($\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COOH}$)和 10.0 g 柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{O}_7\cdot 2\text{H}_2\text{O}$),加入约 50 mL 水溶解,再加 55 mL 氢氧化钠溶液($c(\text{NaOH}) = 2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$),用水稀释至 200 mL。

③ 亚硝基铁氰化钠溶液($10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$): 称取 1.0 g 亚硝基铁氰化钠($\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\cdot\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$),溶于 100 mL 水中,此试剂在冰箱中可稳定一个月。

④ 次氯酸钠溶液($c(\text{NaClO}) = 0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$): 量取 1 mL 次氯酸钠试剂原液,用碘量法标定其浓度。然后用氢氧化钠溶液($c(\text{NaOH}) = 2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)稀释成 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液。此试剂在冰箱中可保存两个月。

⑤ 纳氏试剂: 称取 16 g 氢氧化钠,溶于 50 mL 水中,充分冷却至室温。另称取 7 g 碘化钾和 10 g 碘化汞(HgI_2)溶于水,然后将此溶液在搅拌下徐徐注入氢氧化钠溶液中,用水稀释至 100 mL,贮于聚乙烯瓶中,密塞保存。

⑥ 酒石酸钾钠溶液: 称 50 g 酒石酸钾钠($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)溶于 100 mL 水中,加热煮沸以除去氨,放冷,定容至 100 mL。

⑦ 氨标准溶液。标准贮备液: 称取 0.3142 g 经 105°C 干燥 1 h 的氯化铵(NH_4Cl),用少量水溶解,移入 100 mL 容量瓶中,用 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 吸收液稀释至刻度。此溶液 1.00 mL 含 1.00 mg 氨;标准工作液: 临用时,将标准贮备液用 $0.005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 吸收液稀释成 1.00 mL 含 1.00 μg 氨。

2.2 绘制标准工作曲线

两种比色法检测氨氮含量的标准工作曲线的绘制过程基本相同,只是各点取用的氨标准工作液稍有不同。以靛酚蓝法为例,按表 1 制备标准色列管^[9,11]。

表 1 靛酚蓝法标准工作曲线溶液方案

管号	氨标准工作液/mL	吸收液/mL	氨含量/ μg	氨浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
0	0.00	10.00	0.00	0.00
1	0.40	9.60	0.40	0.04
2	0.60	9.40	0.60	0.06
3	1.00	9.00	1.00	0.10
4	2.00	8.00	2.00	0.20
5	5.00	5.00	5.00	0.50
6	7.00	3.00	7.00	0.70

具体绘制方法如下: 于标准色列各管中加入 0.5 mL 5% 水杨酸溶液,再加入 0.1 mL 1% 亚硝基铁氰化钠溶液和 0.1 mL $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 次氯酸钠溶液,混匀。室温下放置 1 h。用 10 mm 比色皿,以水作参比,在波长 697.5 nm 下,测定各管溶液吸光度。以氨浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,并计算回归线的线性方程及标准曲线相关系数。

2.3 检测水体中氨含量

在具塞比色管中加入 10 mL 水样(大明湖、黑虎泉、趵突泉、五龙潭、东昌湖、海河以及学校自来水), 再按绘制标准曲线的操作步骤测定样品的吸光度。按标准工作曲线线性方程计算水样中的氨氮浓度。

3 实验结果与讨论

3.1 标准工作曲线实验结果

根据国标的方法, 经过不断探索和完善, 实验小组得到的两种比色法的标准曲线均达到了很好的线性关系, 其相关系数均达到 0.9999 以上(图 1)。其中, 靛酚蓝法为 0.99994, 截距和斜率的比值为 0.0106, 纳氏试剂法为 0.99992, 符合国标的相关精度要求(例如, 靛酚蓝法国标中明确要求: 标准工作曲线的相关系数应大于 0.999, 且截距与斜率比值的绝对值应小于 0.05, 否则应重新绘制标准工作曲线^[9])。

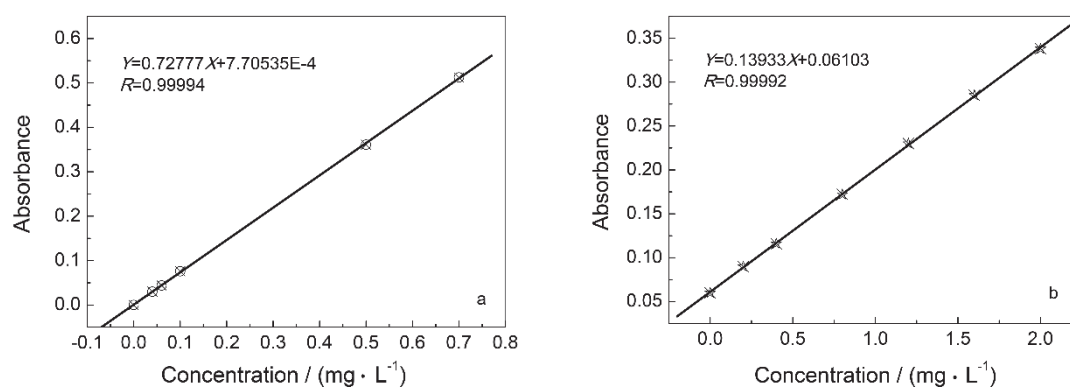


图 1 两种比色法得到的标准曲线

(a) 靛酚蓝法; (b) 纳氏试剂法

3.2 标准工作曲线实验讨论

在绘制两种比色法标准工作曲线的过程中, 由于实验小组成员是初次接触分析化学实验, 出现了这样那样的失误。绘制出的标准工作曲线达不到国标的相关要求, 仍然以靛酚蓝法为例, 其中典型的几组失败数据如图 2 所示。

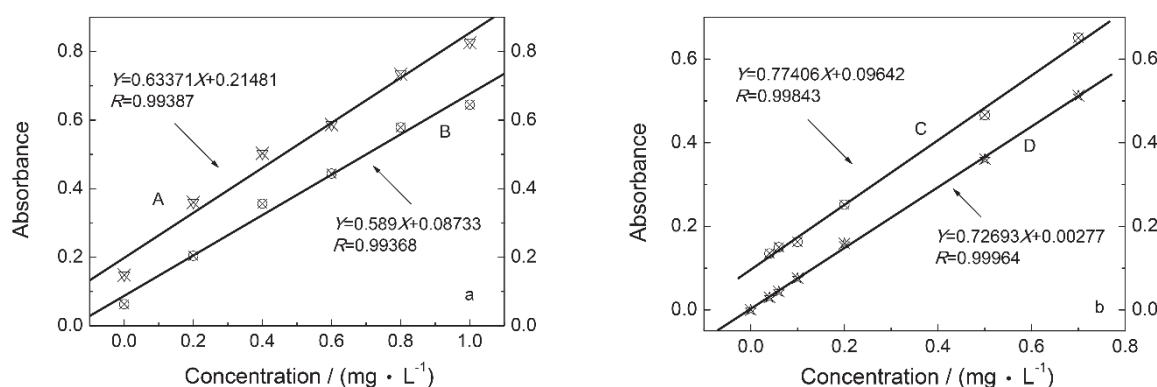


图 2 几组失败的标准工作曲线图

(A)、(B) 没有按照国标指定的色列表配制标准工作液组; (C)、(D) 严格按照国标指定的色列表配制标准工作液组

从图中可以看到, 失败的几组数据结果均是吸光度(Absorbances, ABS)偏高且标准工作曲线线性相关系数偏低。分析原因如下: A 组, 首先, 没有仔细阅读国标中对于标准工作曲线一节中对于

标准工作液的浓度的设计列表,自己设计了6个浓度点;其次,按照文献要求加入显色物质后应放置1 h,但本组实验放置了3 h,导致ABS偏高;再者,操作策略上出现失误,各标准工作液浓度均事先在50 mL容量瓶中配好,用移液器分别取10 mL液体移入比色管中,这样,每次移取时会带来人为误差;最后,也是分析实验中需要注意的,由于显色物质静置会沉降,即下层物质浓度高于上层物质浓度,移取前未充分摇晃,使得每支比色管中显色物质含量不同,导致所测ABS有偏差。第一次实验结束后,在没仔细分析以上几个问题的情况下马上进行了B组实验,依然是自己设计的几个浓度点,只是注意到了显色反应的反应时间是1 h。但忽略了检测每个浓度点的工作液的吸光度也需要一定的时间,以测定一个样品5 min计算,检测最后一个样品时已经超时0.5 h,所以依然没有得到合格的标准曲线。

经过两次失败的实验以后,学生深刻地体会到想获得合格的标准工作曲线没有那么简单。仔细阅读国家标准后,修正了标准工作液的色列浓度,和指导教师沟通了如何准确计时和如何移取显色溶液,进行了C组和D组实验,标准工作曲线的线性相关系数得到很大改观。C组出现操作失误,用错了移液管,移取稀释后的吸收液所用的移液管用的是配制高浓度的吸收液时所用的移液管,导致某个浓度点误差较大。D组的相关系数基本合格,但截距与斜率的比值没有达到国家标准的精度要求。

通过多次的失败实验,实验小组一致认为,比色法检测氨氮含量时要注意以下几点:移取次数尽量少,减小误差;比色法检测氨氮含量所测定显色物质的ABS与加入显色物质后放置时间呈正相关,因此应严格把控成色反应时间;每次移取显色物质前应充分摇匀,防止移取的显色物质浓度不均匀,造成误差。

3.3 测定水样的结果

成功地绘制好两种比色法检测氨氮含量的标准工作曲线后,实验小组对济南市区内三大名泉(趵突泉、黑虎泉、五龙潭)、大明湖、聊城东昌湖以及天津海河的水体样品中的氨氮含量进行了检测,并把山东师范大学的自来水作为对比样品,两种比色法的检测结果如表2及表3所示。

表2 靛酚蓝法测得水样吸光度及氨氮含量

水样名称	第一次吸光度	第二次吸光度	平均值	氨浓度/(mg·L ⁻¹)
大明湖	0.047	0.047	0.047	0.06
黑虎泉	0.057	0.050	0.054	0.07
趵突泉	0.055	0.046	0.051	0.07
五龙潭	0.058	0.044	0.051	0.07
东昌湖	0.129	0.147	0.138	0.19
海河	0.187	0.193	0.190	0.26
自来水	0.073	0.057	0.065	0.09

表3 纳氏试剂法测得水样吸光度及氨氮含量

水样名称	第一次吸光度	第二次吸光度	平均值	氨含量/(mg·L ⁻¹)
大明湖	0.056	0.053	0.0545	-0.47
黑虎泉	0.045	0.049	0.047	-1.00
趵突泉	0.050	0.048	0.049	-0.86
五龙潭	0.051	0.052	0.0515	-0.68
东昌湖	0.071	0.076	0.0735	0.90
海河	0.084	0.080	0.082	1.50
自来水	0.045	0.046	0.0455	-1.11

从检测结果可以看到,济南市区内三大名泉(趵突泉、黑虎泉、五龙潭)和大明湖的水样中以及学校自来水中氨氮含量符合国标《地表水环境质量标准》中1类水质标准($\leq 0.15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[8],并远优于《生活饮用水卫生标准》规定的标准($\leq 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[12];东昌湖、海河的水样符合《地表水环境质量标准》2类标准($\leq 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$);而海河水样中的氨氮含量明显高于其余水样。这样的氨氮含量结果与济南市的水样是采自于经过地质岩层纯化后的泉水有关,也与样品所在地的社会经济发展状况和水体流域的污染情况有关。

3.4 靛酚蓝法与纳氏试剂法比较

目前,国标中通过比色法来检测氨氮含量的方法主要有靛酚蓝分光光度法和纳氏试剂分光光度法。二者都是利用氨与特定试剂发生显色反应,用分光光度计测定显色物质的吸光度,进而计算氨含量。比较以上两种方法,我们发现对于同一样品,用不同方法所测定的氨含量相差较大。纳氏试剂法所测大明湖、黑虎泉、趵突泉、五龙潭和饮用水的氨浓度为负值,但露天湖水中必定含有氨。因此两种方法对比来看,虽然纳氏试剂法是氨的经典测定方法,但该方法的灵敏度不如靛酚蓝法高(纳氏试剂法检测下限为 $0.2 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,样品可测浓度范围 $0.4\text{--}4 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$;靛酚蓝法检测下限为 $0.05 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,样品可测浓度范围 $0.01\text{--}2 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ ^[11])。另一方面,纳氏试剂法需用到氯化汞或碘化汞等有毒试剂,易造成污染。而靛酚蓝法更为方便、准确、易于操作,且所用试剂更安全无毒,减轻了对实验人员的安全危害。因此,在测定水样中微量氨氮时,靛酚蓝法优于纳氏试剂法。

4 结语

依照国家标准中检测水体中氨氮含量的两种主流方法,实验小组检测了济南市区内三大名泉、大明湖、聊城东昌湖以及天津海河的水体样品中的氨氮浓度,并把山东师范大学的自来水作为对比样品,比较了比色法检测水体中氨氮含量的两种检测方法的差异。结果表明,通过不断地完善检测操作,两种方法的标准工作曲线的相关系数均能达到0.9999以上。趵突泉、黑虎泉、五龙潭和大明湖的水样中以及学校自来水中氨氮含量符合国标《地表水环境质量标准》中1类水质标准($\leq 0.15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[8],并远优于《生活饮用水卫生标准》规定的标准($\leq 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[12];东昌湖、海河的水样符合《地表水环境质量标准》2类标准($\leq 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$);而海河水样中的氨氮含量明显高于其余水样,为 $0.2600 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验中发现,对于同一样品,用不同方法所测定的氨含量相差较大。根据两种方法的检测限的不同,可以认为纳氏试剂法更适合于污染较严重的水样,而靛酚蓝法适于较清洁的水样。更重要的是,学生从检测过程中的得失领悟到了采用比色法检测、分析样品的方法技巧。一致认为,比色法检测氨氮含量时要注意以下几点:移取次数尽量少,减小误差;比色法检测氨氮含量所测显色物质的ABS与加入显色物质后放置时间呈正相关,因此应严格把控成色反应时间;每次移取显色物质前应充分摇匀,防止移取的显色物质浓度不均匀,造成误差。

参 考 文 献

- [1] 赵倩. 1997–2007年上海市青浦区水体氮素含量时空变化特征及驱动因子分析[D]. 上海: 复旦大学, 2009.
- [2] 卢可. 氨氮和COD测定方法的改进及研究[D]. 安庆: 安庆师范大学, 2017.
- [3] 张铃松, 王业耀, 孟凡生, 刘廷良, 马广文, 周岳溪, 刘允. 环境科学与技术, **2013**, No. 10, 43.
- [4] 徐烜峰, 李维红, 边磊, 关玲, 李恩敬, 张奇涵. 大学化学, **2018**, 33 (4), 41.
- [5] 封跃鹏, 邱赫男, 孙自杰. 环境科学与技术, **2016**, 39 (S2), 348.
- [6] 钱林平, 李进之, 郑耿锋, 沈建中. 大学化学, **2018**, 33 (2), 60.
- [7] 赵艳芳, 徐鲁斌. 大学化学, **2017**, 32 (12), 69.
- [8] GB 3838–2002. 地表水环境质量标准. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [9] QX/T 217–2013. 大气中氨(铵)测定: 靛酚蓝分光光度法. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [10] HJ 535–2009. 水质氨氮的测定 纳氏试剂分光光度法. 北京: 中国环境科学出版社, 2010.
- [11] GB/T 18204.2–2014. 公共场所卫生检验方法 第2部分: 化学污染物. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [12] GB 5749–2006. 生活饮用水卫生标准. 北京: 中国标准出版社, 2007.