

甲亚胺-H分光光度法测硼的条件及应用*

郑 路

(安徽农学院)

国内外有关甲亚胺-H分光光度法测硼的报道已有不少,但是不同资料对反应酸度、光密度的稳定时间说法不一,有关甲亚胺-H浓度、反应温度的影响讨论很少。本文试对甲亚胺-H的制备及甲亚胺-H浓度、酸度、温度、比色时间和干扰离子等条件进行探讨,进而选择适宜条件用于土壤、植物中硼的测定。

一、试剂、仪器

用分析纯试剂和去离子水,所配溶液贮于塑料瓶中。

1. 甲亚胺-H需自行制备,原料为H酸钠或H酸 $[C_{10}H_4NH_2OH(SO_3H)_2]$, 8-氨基-1-萘酚-3, 6-二磺酸]和水杨醛 $[C_6H_4OH \cdot CHO]$ 。

2. 抗坏血酸。

3. 硼标准溶液:将0.5716克硼酸溶解,定容为1000毫升,此液含B 100ppm,用前稀释为5ppm工作液。

4. 50% NH_4OAc 溶液,用1N HCl调至pH6.3。

5. 0.5M EDTA溶液,1N HCl; 1N NaOH。

所用仪器为25型酸度计;72型分光光度计。测定波长用420nm。

二、甲亚胺-H的制备

在酸性条件下H酸与水杨醛很容易反应生成甲亚胺-H。各资料中H酸与水杨醛的反应配比差异很大^[1,2,3]。据我们试验,二者重量比为3:1时合成率最高。可直接配制成溶液用或制成甲亚胺-H成品备用。

(1) 甲亚胺-H溶液的制备:用前配制,方法为:溶液A——2克抗坏血酸溶于50毫升水,加1克H酸钠,微热助溶,如有沉淀可过滤;溶液B——0.3毫升水杨醛溶于约20毫升95%乙醇,加水至50毫升;A与B混合即得桔色甲亚胺-H溶液。该液pH约2.5,甲亚胺-H浓度约1%,2天内有效。低温保存可延长有效期。如要制备不同浓度的甲亚胺-H溶液,可相应增减A中H酸钠及B中水杨醛的量。直接配制甲亚胺-H液液简便快速,但只能现配现用,不同时候配制的溶液因温度、试剂等条件变化,浓度会稍有不同,故难以准确计算。不过只要每次测定用同一配制液,不影响测定。

(2) 甲亚胺-H成品的合成:H酸钠30克溶于1000毫升水,稍加温促溶,用1:1HCl调pH约1.5,边搅边加入10毫升水杨醛,振荡2小时,放2—3天,间或摇动,得橙黄色沉淀,以布氏漏斗抽

*汤培国,方素贞,陈世勇,肖亚等同志参加部分工作。

气过滤(或离心分离),用无水乙醇洗3—4次,105℃烘3小时,得桔色粉状甲亚胺-H,产率约45%。产品易吸湿,应保存在干燥处,可长期使用。用前配成2%抗坏血酸-1%甲亚胺-H水溶液,天冷时可微热(<50℃)助溶,36小时有效。甲亚胺-H成品使用方便,溶液浓度易准确控制,但制备麻烦。

三、甲亚胺-H浓度对光密度的影响

经测试,在一定pH条件下,甲亚胺-H溶液的光密度随浓度增加而增加,但二者不成直线关系(表1)。

甲亚胺-H与硼反应生成颜色的强度依赖于试剂浓度,在一定的pH范围内,硼标准溶液的光密度随甲亚胺-H浓度增加而增加(表1),这与Basson等人的试验结果相一致^[2]。甲亚胺-H浓度不同,标准曲线斜率不一样(图1),浓度高,曲线斜率大,灵敏度较高。

表1 不同浓度甲亚胺-H硼溶液的光密度

硼浓度 (ppm)	甲亚胺-H浓度 (%)				
	0	0.033	0.05	0.10	0.15
0.0	0	0.020	0.036	0.105	0.225
0.4	0	0.050	0.110	0.260	0.430
1.0	0	0.095	0.176	0.450	0.720

溶液pH5.2

所用甲亚胺-H的浓度,各资料不一样^[4,5,6]。据我们试验,比色液中甲亚胺-H浓度不应低于0.05%,否则光密度很低。适宜的浓度为0.08—0.15%,常用0.10%。为了提高灵敏度可适当提高甲亚胺-H的浓度,但不应超过0.20%,过高则空白吸收过大,曲线弯曲,有的比色液会出现浑浊,不能测定。

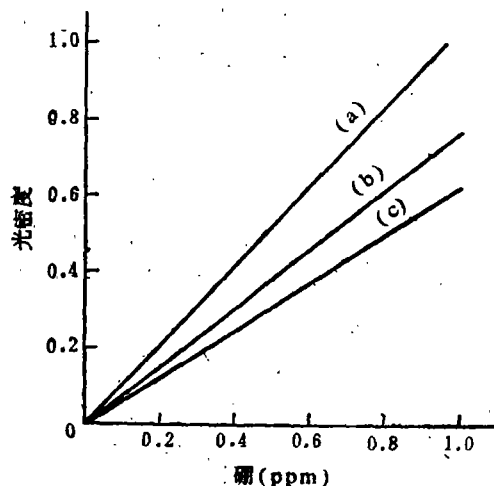


图1 不同浓度甲亚胺-H的硼标准曲线
甲亚胺-H浓度: (a)0.15%, (b)0.10%, (c)0.08%。

四、酸度的影响

甲亚胺-H溶液不论浓度高低,其颜色都随pH不同而有规律地变化,如表2。

表2 不同酸度甲亚胺-H溶液的颜色变化

pH	2.5	3.5	4.5	5.0	5.5	6.0	7.0	7.5	8.0
颜色	桔红	桔黄	微红黄色	黄	浅黄	黄	微红黄色	桔黄	桔红

不同浓度甲亚胺-H溶液的光密度均随pH上升呈规律性变化。经测定,甲亚胺-H溶液在pH4-6光密度低,变化率小(图2)。此低光密度区域随甲亚胺-H浓度增加而缩小并稍右移。pH6.5以上光密度急剧上升,至pH8.0以上趋于稳定。

硼标准溶液的光密度在pH8.0以下随pH增加而增加。不同酸度条件的标准曲线如图3。pH低于4,光密度很低;低于2,不显色。随pH上升,曲线斜率增加,在pH5-6范围内,曲线线性好,斜率相同,扣除空白吸收后曲线重合,重现性也好,这是比色测定的最佳pH范

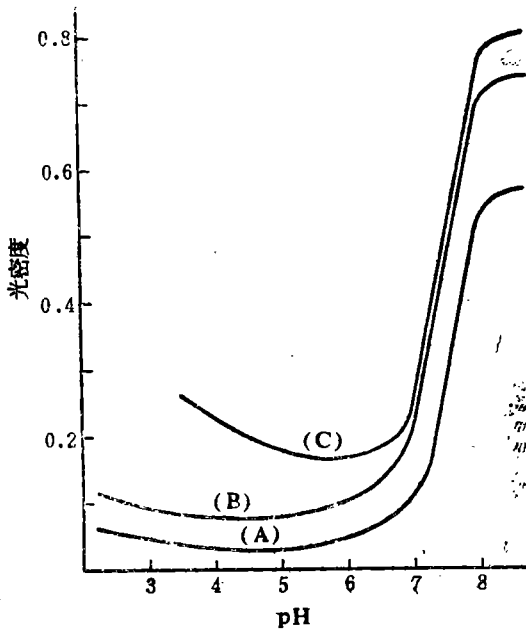


图2 不同酸度甲亚胺-H溶液的光密度
甲亚胺-H浓度: (A)0.05%, (B)0.10%, (C)0.15%。

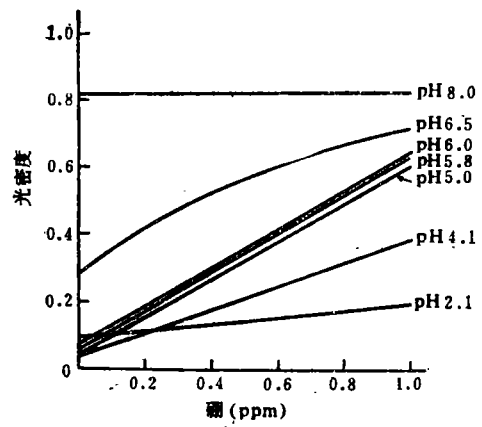


图3 不同酸度条件下的硼标准曲线

围。pH6.5以上甲亚胺-H空白吸收大,曲线弯曲,至pH8.0时成为与浓度轴平行的线,不能用于测定。

不同资料报道比色溶液的最适酸度很不一致,如 pH6.35, pH5.1^[1], pH6.7—7.0^[5], pH4—5^[7]等。之所以有这些差异,

是因为不仅甲亚胺-H溶液的光密度大小影响测定酸度,而且甲亚胺-H的浓度、所用缓冲剂类型等也影响测定酸度,这些条件的变化,可使得最适酸度在一定范围内变动。用0.2ppm硼试验,甲亚胺-H浓度为0.10%时,pH6.2以上光密度剧升;浓度为0.12%时,pH5.8以上剧升。甲亚胺-H浓度高,适测pH范围较低。甲亚胺-H浓度相同时,用 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{—KH}_2\text{PO}_4$ 作缓冲液,适测酸度比用 NH_4OAc 约高0.5pH单位。

甲亚胺-H浓度及溶液酸度是影响灵敏度和测定范围的主要因素。pH和甲亚胺-H浓度高则灵敏度高而测定范围小;反之,可扩大测定范围,但灵敏度降低。一般分析工作中可根据样品含B多少,在pH4—6.5,甲亚胺-H浓度0.08—0.15%范围内调节酸度和甲亚胺-H浓度,使测定范围为0—1.0ppm或0—4.0ppm。

五、温度的影响

不同温度条件下的多次测定都表明,甲亚胺-H空白溶液及硼标准溶液的光密都是随温度升高而降低。变幅大小与溶液光密度大小相关。硼标准曲线的斜率随温度升高而降低(图4),温度低,灵敏度高,但测定范围变小。室温下均可测定,以15—25℃为好。

六、反应速度及稳定时间

比色溶液光密度的稳定期,不同资料差异很大^{[5][7]}。据我们试验,显色快慢及稳定期的长短与溶液pH、甲亚胺-H浓度、介质条件和保存方式等关系很大,不可一概而论。

pH由低而高,显色速度加快。据F.J.Krug等报道^[4],在pH5.0达最大吸收值要2小时,在pH7.3时只用2分钟。我们的多次试验表明,在pH5—6,既能较快完成反应,又有很长的稳定时间。表现为0—2小时光密度上升,达最大值后,略微下降,然后至少稳定10小时,有的可稳定24小时以上。pH低于4时,显色很慢。pH高于6.5时,显色很快,但光密度稳定性

很差(图5)。所以,在pH5-6,反应放置2小时后,在10小时内比色测定为好。在某些情况下(如流动注射分析),需要反应速度快,可用高pH(pH6.5—pH7.3)和较低浓度甲亚胺-H(0.05%)进行测定^[4],此时比色测定时间和溶液酸度必须准确控制。

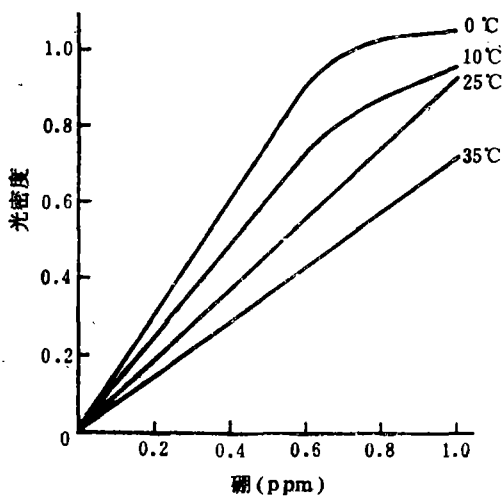


图4 不同温度条件下的硼标准曲线

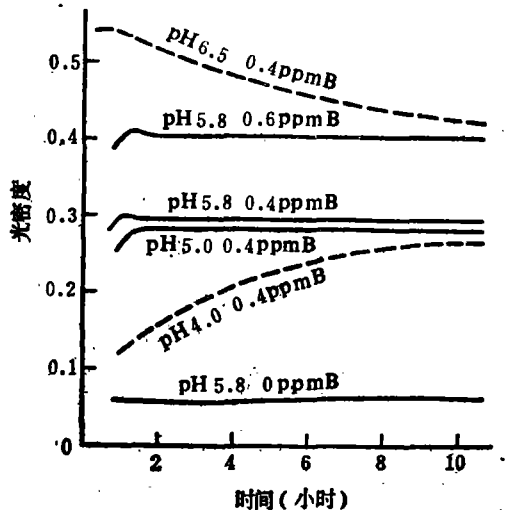


图5 光密度—时间曲线

光密度稳定时间的长短与温度、容器、保存方式有关。甲亚胺-H易氧化,适当增加溶液中抗坏血酸的量有助于增加稳定性。小口容器密封保存,稳定时间较长。低温可延长稳定时间,在一组对照试验中,25℃时光密度稳定10小时,0℃时稳定48小时。

七、干扰离子

经试验, SO_4^{2-} 、 NO_3^- 浓度在0.2M以下, Cl^- 在0.5M以下时不影响测定。 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 浓度高时可使曲线向浓度轴弯曲。含 NH_4OAc 与不含 NH_4OAc 溶液的光密度不一样。作为缓冲剂的 NH_4OAc 由于浓度高且用量相同,可使影响程度一致。用磷酸盐作缓冲剂,要准确控制用量一致,否则会引起较大误差。

经测试, Fe^{3+} 达10ppm即干扰,50ppm时严重干扰,加EDTA可消除干扰。 Al^{3+} 的干扰超过 Fe^{3+} ,量少时可用EDTA或NaF掩蔽。 Mn^{2+} 达400ppm、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 达2000ppm也无影响。据报道,其它如Cu、Zn、Sn、Hg、Mo、Cr等也会有干扰,可加EDTA(5%)及NTA掩蔽^{[4][7]},掩蔽剂应于显色前加。一般待测样品中干扰离子含量很少,不致影响。

八、土壤、植物样品中硼的测定

土壤有效硼的提取按常用的土水比1:2,5分钟煮沸提取法操作。植物样品0.5克用500℃干灰化法处理^[1]。对种子,尤其是油料作物种子,可加少许 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 拌和后灰化,防止B挥发损失。灰分用3毫升0.1N HCl溶解,移入50毫升量瓶中定容。如浑浊,则澄清或离心取清液测定。同时做空白。操作步骤如下:

标准曲线,25毫升容量瓶中,分别加入5ppm标准硼溶液0、1、2、3、4、5毫升,各加dH6.3 50% NH_4OAc 溶液2.5毫升,0.5M EDTA 1毫升,加水至近20毫升,摇匀,加2%抗坏血酸-1%甲亚胺-H溶液2.5毫升,定容,放置2小时后以试剂空白为零点比色测定。此比色液pH为5.8。硼浓度为0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0ppm。每次样品测定都须同时制作标

准曲线。

样品测定：吸取5—10毫升土壤浸提液或1—5毫升植物样品液，置于25毫升容量瓶中，与标准曲线同样操作。几种土壤和植物样品的测定结果见表3。

用砂姜黑土进行了回收试验，回收率为95—106%。有的土壤浸提液有机色素较多，干扰测定。可用活性炭、 H_2O_2 、 $KMnO_4$ - $H_2C_2O_4$ 等吸附或氧化脱色，但都有B损失，误差大。实际测定时若浸提液颜色浅，影响不大。若色深时，可扣除空白，减少误差。

九、小 结

甲亚胺-H可预先合成为成品，长期使用，亦可在临用前直接配制为溶液。溶液不稳定，应在1—2天内使用。同批测定应该用同一甲亚胺-H溶液。

该法适用酸度范围是pH4—6.5，以pH 5—6为最佳。甲亚胺-H浓度适宜范围是0.08—0.15%，常用0.10%。在上述范围内可视样品含硼多少适当调节酸度和甲亚胺-H浓度，使测定范围为0—1.0ppm或0—4.0ppm。pH高，甲亚胺-H浓度高，则反应较快，灵敏度较高，测定范围较小；pH低，甲亚胺-H浓度低，则反应较慢，灵敏度较低，而测定范围较大。该法要求测定溶液的pH、甲亚胺-H浓度、温度条件一致，必须注意顺次准确地加入各试剂。溶液中的干扰离子可用EDTA掩蔽，光密度稳定时间在10小时以上，应在定容后放置1—2小时，10小时内比色测定完，该法操作简便，设备要求不高，只要控制好反应条件可获得准确结果。尤其适用于大批样品的分析工作。

表3 几种土壤和作物的硼含量(ppm)

样 品	第一次测得值	第二次测得值	偏差	相对偏差 (%)
砂姜黑土 A	0.35	0.36	0.01	2.8
砂姜黑土	0.40	0.38	0.02	5.1
砂姜黑土	0.32	0.33	0.01	3.0
黄棕壤 A	0.29	0.30	0.01	3.3
黄棕壤	0.33	0.32	0.01	3.0
油菜 花	47.6	47.2	0.40	0.8
油菜茎叶	20.5	20.0	0.50	2.5

注：样品A为2个重复的平均值，其它样品为3个重复的平均值。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院南京土壤研究所微量元素组，土壤和植物中微量元素分析方法，127—136，科学出版社，1979。
- [2] R.A. Edwards, The Analyst, 105(1247): 139—146, 1980.
- [3] W.D. Basson, P.P. Pille and A.L. Du Preez, The Analyst, 99(1176): 168—170, 1974.
- [4] F.J. Krug, J. Mortatti, et al., Analytica Chimica Acta, 125: 29—35.
- [5] 董慕新，甲亚胺-H酸光度法测定土壤热水溶性硼的条件研究。土壤肥料，第1期，37—39页，1983。
- [6] 张先鸾，甲亚胺-H酸测定硼的改进。分析化学，第9卷6期，745页，1981。
- [7] G.D. Schucher, T.S. Magliocca and Yao-Sin su, Analytica Chimica Acta, 75(1): 95—100, 1975.

(上接第160页)

参 考 文 献

- [1] Marianna Mantel and Raya Nothmann, Analyst, 102: 672—677, 1977.
- [2] J.W. Miller et al., Anal. Chem., 54: 485—488, 1982.
- [3] 李世壮等，液上气相色谱分析，第I—16页，上海科技出版社，1981年。
- [4] 钱文恒等，液上色谱三氯乙酸残留分析，环境科学，5(5): 71—72, 1984.