

# NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 的水杨酸比色法快速测定<sup>\*</sup>

段建军<sup>1</sup>, 周建斌<sup>1</sup>, 王国栋<sup>2</sup>, 胡普辉<sup>3</sup>, 刘延风<sup>3</sup>

(1 西北农林科技大学 资源环境学院; 2 生命科学学院, 陕西 杨陵 712100;

3 杨陵职业技术学院, 陕西 杨陵 712100)

**[摘要]** 探讨了水杨酸比色法测定NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 的基本原理与影响因素, 确定了测定的线性范围, 并用土壤及水体样品进行了标定。结果表明, 水杨酸比色法测定NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的吸收峰为410~420 nm, 检出极限可达0.1 mg/L, 比标准的酚二磺酸比色法灵敏2~5倍; 水杨酸比色法测定NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 颜色稳定性强, 加盖情况下可保存15 d而无显著变化; 改进后的方法适应pH范围大(pH>2), 可掩蔽高达0.2 mol/L Cl<sup>-</sup> 及2 mg/L NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的干扰。研究认为, 改进水杨酸比色法测定NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 简便、快速, 结果准确。

**[关键词]** NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 测定; 测定方法; 水杨酸比色法

**[中图分类号]** S151.9; O654.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1000-2782(2002)03-0076-05

NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 是土壤中无机氮的主要存在形式, 可直接为植物吸收利用。NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 易随水淋失, 进入水体, 污染环境。农产品中NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 含量过高, 人畜摄入后会形成具有致癌作用的亚硝酸盐, 危害人畜健康。因此, 监控土壤、水体中的NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 含量具有重要意义。测定水、植物和土壤中NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 的方法很多<sup>[1-8]</sup>, 如离子色谱法、蒸馏法、电极法和比色法。其中酚二磺酸比色法是最常用的标准方法<sup>[8]</sup>。但该方法冗长费时, 干扰因素多。因此, 探寻一种简便、快速、准确的NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 测定方法是土壤及环境科技工作者值得深入研究的问题。

有关水杨酸法测定水、植物和土壤中NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 含量的方法已有一些研究<sup>[4]</sup>, 但操作繁琐, 不适合大批量样品分析。Yang等<sup>[1]</sup>曾对水杨酸比色法进行了改进。本研究在其前人研究的基础上, 进一步探讨了水杨酸比色法的影响因素及条件, 旨在进一步完善并确定快速简便的NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 测定方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

仪器设备 烘箱、分光光度计等。

试剂 (1) 100 mg/L NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 标准贮备液。称取一定量的分析纯级KNO<sub>3</sub> 试剂, 置于105℃烘箱中烘6 h, 取出冷却, 然后称取0.7218 g KNO<sub>3</sub> 定容于1 L 容量瓶中。(2) 水杨酸钠混合试剂。称取1 g

水杨酸钠(或0.86 g 水杨酸+0.25 g NaOH), 0.2 g NaCl, 0.1 g 氮磺酸铵, 用0.01 mol/L NaOH 定容于100 mL 容量瓶中。(3) 其他试剂: 0.5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.01 mol/L NaOH, 质量分数30% NaOH。

### 1.2 方法

**吸收曲线的绘制** 在360~620 nm 选择18个不同的波长, 测定质量浓度为4 mg/L 的标准NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 溶液的吸光值, 绘图法确定吸收峰并选择实验比色波长。

**线性范围的确定** 在选择的灵敏波长下, 比色测定0~10 mg/L NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 标准溶液的吸光值, 重复6次。对测定结果进行线性回归, 确定线性范围及重现性, 计算检出限。

**颜色稳定性** 4 mg/L 的标准工作液显色后, 分别在0.25, 1, 4, 18, 31, 48, 72, 360 h 时测定其吸光值, 研究颜色稳定性。重复2次。

**pH 影响** 逐级稀释0.5和0.01 mol/L 的NaOH 溶液, 配制成pH 分别为1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0的3 mg/L 的NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 标准工作液, 测定消光值, 确定不同pH 对颜色生成的影响。

**Cl<sup>-</sup> 的影响** 配制0~1 mol/L 的Cl<sup>-</sup> 标准工作液(含NO<sub>3</sub><sup>-</sup> N 4 mg/L), 分别称取0.585及1.755 g NaCl, 用5 mL 2 mol/L 的NaCl 溶液及5 mL 蒸馏水定容于10 mL 容量瓶中, 配制2及4

\* [收稿日期] 2001-06-26

[基金项目] 杨凌示范区基金资助项目(98a21)

[作者简介] 段建军(1976-), 男, 河南舞阳人, 在读硕士, 主要从事土壤水盐运移及其数值模拟研究。

mol/L 的 NaCl 标准工作液, 测定 Cl<sup>-</sup> 对颜色生成的干扰作用。

NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的影响 称取 0.1232 g NaNO<sub>2</sub>, 定容于 50 mL 容量瓶, 即为 500 mg/L 溶液。逐级稀释配制 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 质量浓度为 0.001, 0.002, 0.005, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 8, 10 mg/L, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度为 3 mol/L 的标准工作液, 测定 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 对颜色生成的干扰, 并用质量分数 0.1% 的氨磺酸铵作掩蔽剂。

操作步骤 吸取 1 mL 标准工作液于试管中, 加入 0.5 mL 水杨酸钠混合试剂, 摇匀。置于 180 烘箱中烘干 ( $t_{50}/H_{60}$ 。本试验条件下约需 1.5~2 h), 取出, 稍冷却, 加入 1 mL 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 摇动, 使浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与所有残渣接触, 静置 5 min。然后沿管壁缓慢加入 5 mL 蒸馏水, 摇匀冷却。再加入 5 mL 质量分数 30% 的 NaOH 水溶液, 摇匀冷却。410 nm 波长下用 1 cm 比色皿测定消光值。

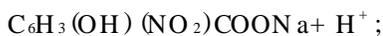
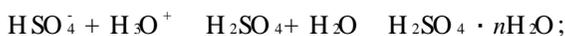
### 1.3 土样及水样中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量的测定

土壤样品分别采自 18 个不同的地区, 4 个水样分别采自渭河、后河、高干渠和渭惠渠的杨陵段。土壤样品风干后, 粉碎, 过 1 mm 筛。每个土样称取 25.0 g, 置于 250 mL 三角瓶中, 加入 0.5 mol/L K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100 mL 浸提, 振荡 30 min, 过滤。水样加入少量活性炭, 振荡, 以吸附有机色素等杂质, 然后过滤。滤液分别用改进水杨酸比色法 (MSSP)、酚二磺酸比色法 (HBSSP) 及流动分析仪 (FA) 测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量, 分析各方法间的相关性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 水杨酸比色法测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的基本原理

在一定条件下, 水杨酸盐与氮氧阳离子 (NO<sub>2</sub><sup>+</sup>) 发生亲电芳香取代反应<sup>[1]</sup>, 生成硝基酚类化合物 (C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(OH)(NO<sub>2</sub>)COONa)。该物质在碱性条件下呈稳定的黄色, 颜色的深浅在一定范围内与 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的浓度成正比。



然而, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 中的 N 原子没有亲电能力<sup>[1]</sup>。因此, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 必须在一定条件下 (浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 介质中并加热) 被激活为具有强亲电能力的氮氧阳离子 (NO<sub>2</sub><sup>+</sup>), 反

应才能进行。在反应过程中, 必须除去水, 然后 NO<sub>2</sub><sup>+</sup> 导致苯环的硝基化<sup>[2,5]</sup>。含水的 HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 体系中的平衡移动引起 HSO<sub>4</sub><sup>-</sup> 的形成, 从而导致 NO<sub>2</sub><sup>+</sup> 浓度降低。Olah 等<sup>[2]</sup>报道, 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 介质浓度 < 90% 时硝化速率迅速下降。这从上述的反应过程中可以得到很好的解释。反应  $\text{H}_2\text{NO}_3^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} + \text{NO}_2^+$  是不可逆的<sup>[1,5]</sup>, 因此, 温度越高, 除去水的速度就越快, 生成 NO<sub>2</sub><sup>+</sup> 的反应进行得就越快。

### 2.2 水杨酸测定吸收峰

不同波长下, 测定了 4 mg/L 的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 标准工作液, 绘制了 A~λ 曲线, 如图 1 所示。结果表明, 在本试验条件下, 水杨酸测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的最大吸收峰为 410~420 nm。

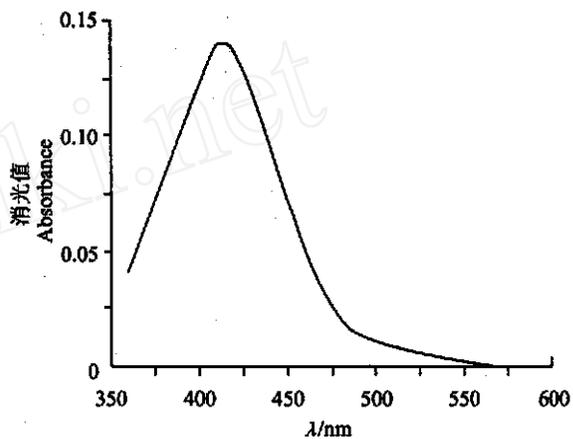


图 1 水杨酸比色法测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的吸收曲线与吸收峰

Fig. 1 Absorbance curve and apex of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N determined by Salicylate- Spectrophotometric analysis

### 2.3 水杨酸测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的线性范围与重现性

水杨酸法测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的线性范围为 0~7 mg/L。6 次重复经回归、检验无显著差异, 故可回归为 1 个方程, 且经检验 b<sub>0</sub> 不显著。其回归方程为

$$y = 0.0707x, r = 0.9886^{**} (n = 42)$$

这表明, 该方法具有很好的重现性。

试验结果计算表明, 水杨酸法与酚二磺酸法测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的摩尔吸光系数<sup>[9]</sup>分别为

$$\epsilon_{\text{水杨酸}} = 5.23 \times 10^4 \pm 3.6 \times 10^3,$$

$$\epsilon_{\text{酚二磺酸}} = 1.90 \times 10^4 \pm 8.0 \times 10^3.$$

显然, 水杨酸法较酚二磺酸法灵敏 2~5 倍。若以 A = 0.005 为最小检出值, 水杨酸法的检出限为 0.1~0.3 mg/L。

### 2.4 水杨酸测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 颜色稳定性

研究结果 (表 1) 表明, 水杨酸法测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N

生成的黄色物质具有很高的稳定性。加盖情况下,显色液至少可以稳定保存 15 d 而无显著变化。

表 1 水杨酸比色法测定  $\text{NO}_3^-$ -N 含量生成颜色的稳定性

Table 1 The stability of colors in the determination of nitrate determined by Salicylate-Spectrophotometric analysis

时间/h Time	吸光值 Absorbance			标准差 Standard difference	变异 系数/% Variability coefficient	时间/h Time	吸光值 Absorbance			标准差 Standard difference	变异 系数/% Variability coefficient
	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	平均 Average				重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	平均 Average		
0.25	0.279	0.284	0.282	0.0035	1.26	31	0.278	0.288	0.283	0.0071	2.50
1	0.280	0.278	0.279	0.0014	0.51	48	0.279	0.285	0.282	0.0042	1.50
4	0.277	0.286	0.282	0.0064	2.26	72	0.277	0.283	0.280	0.0042	1.52
18	0.283	0.276	0.280	0.0049	1.77	360	0.286	0.284	0.285	0.0014	0.49

## 2.5 pH 的干扰

研究结果(图 2)表明,水杨酸测定  $\text{NO}_3^-$ -N 的临界 pH 值约为 2。当  $\text{pH} < 2$  时,颜色的生成受到强烈抑制;当  $\text{pH} > 2$  时,pH 对颜色的生成无影响。有研究指出<sup>[11]</sup>,按上述方法配制的水杨酸钠混合试剂的 pH 值约为 9.8,如果样品最初的 pH 值  $> 3$ ,则样品与水杨酸钠混合试剂混合后, pH 值被缓冲为 9.6,但如果样品最初  $\text{pH} < 2$ ,则混合后样品的  $\text{pH} < 3.3$ 。这说明,配制水杨酸钠混合试剂与传统的水杨酸法相比,其适应 pH 范围大(因为水杨酸钠混合试剂具有缓冲性)。因此,用水杨酸法测定  $\text{NO}_3^-$ -N 时,除强酸浸提液外,无需用碱中和待测样品。

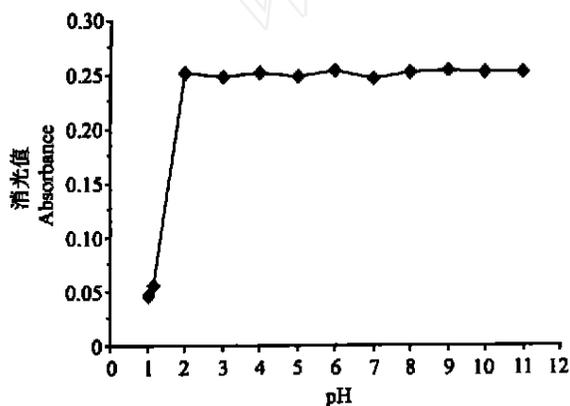


图 2 pH 对水杨酸比色法测定  $\text{NO}_3^-$ -N 结果的影响

Fig. 2 Effect of pH on the values of nitrate concentration determined by Salicylate-Spectrophotometric analysis

## 2.6 $\text{Cl}^-$ 的干扰

结果(表 2)表明,在外加  $\text{Cl}^-$  含量低的情况下,  $\text{Cl}^-$  几乎无干扰作用。但当  $\text{Cl}^-$  浓度达  $0.1 \text{ mol/L}$  时,消光值开始下降;达到  $0.2 \text{ mol/L}$  时,其干扰作用已达到 5%。以后随着  $\text{Cl}^-$  浓度的增大,生成颜色的强度显著减小。

试验中观察到,当介质中  $\text{Cl}^-$  浓度达到  $0.1 \sim 0.2 \text{ mol/L}$  时,向烘干的残渣中加入浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  时有刺激性白色雾状物产生。Scheuber<sup>[4]</sup>指出,

$1.500 \text{ mg/L}$  (约  $= 0.02 \text{ mol/L}$ )  $\text{Cl}^-$  的干扰可以忽略。高浓度的  $\text{Cl}^-$  可与  $\text{NO}_3^-$  反应,生成亚硝酰氯及其他含氯气体,从而消耗  $\text{NO}_3^-$ <sup>[6-8]</sup>。试验还发现,单独的  $\text{Cl}^-$  在  $410 \text{ nm}$  处几乎无吸收,而且显色后加入  $\text{Cl}^-$  亦无影响。可见  $\text{Cl}^-$  是在烘干或加入浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  过程中参与了反应。Yang 等<sup>[1]</sup>报道,含  $2 \text{ mg/L}$  的  $\text{NO}_3^-$ -N 标准溶液在  $1 \text{ mol/L}$   $\text{KCl}$  介质下仍能保持良好的线性关系,而  $\text{KCl}$  达  $2 \text{ mol/L}$  则不然。因此,建议在用水杨酸法测定  $\text{NO}_3^-$ -N 时,最好用低浓度的  $\text{KCl}$  (如  $1 \text{ mol/L}$ ) 或其他中性盐及蒸馏水浸提,并且水杨酸钠混合试剂中  $\text{Cl}^-$  浓度也应保持在  $0.03 \sim 0.05 \text{ mol/L}$ 。

表 2  $\text{Cl}^-$  对水杨酸比色法测定  $\text{NO}_3^-$ -N 含量的影响

Table 2 Effects of  $\text{Cl}^-$  on the results of  $\text{NO}_3^-$ -N concentration determined by Salicylate-Spectrophotometric method

$\text{Cl}^-$ 浓度/ ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Concentration of $\text{Cl}^-$	吸光值 Absorbance		
	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	平均 Average
0	0.278	0.283	0.280
0.00005	0.274	0.280	0.277
0.0001	0.280	0.282	0.281
0.002	0.280	0.287	0.284
0.005	0.288	0.271	0.280
0.01	0.312	0.276	0.294
0.02	0.288	0.281	0.284
0.05	0.270	0.297	0.284
0.1	0.265	0.275	0.270
0.2	0.267	0.266	0.266
0.5	0.247	0.261	0.254
1	0.224	0.217	0.220
2	0.205	0.195	0.200
4	0.173	0.175	0.174

## 2.7 $\text{NO}_2^-$ 的干扰

测定  $\text{NO}_3^-$  的各种比色法中,  $\text{NO}_2^-$  都是严重的干扰因子<sup>[6,7]</sup>,需要使用各种方法破坏之<sup>[6]</sup>。本研究结果(表 3)表明,在水杨酸钠混合试剂中加入  $1 \text{ g/L}$  的氨基磺酸铵(掩蔽剂)可以有效抑制高达  $2 \text{ mg/L}$

NO<sub>2</sub> 的干扰, 而不加掩蔽剂时, 很微量的 NO<sub>2</sub> 都会产生严重干扰。

表 3 NO<sub>2</sub>-N 对水杨酸比色法测定 NO<sub>3</sub>-N 含量的干扰

Table 3 Interferences of NO<sub>2</sub>-N on the content of NO<sub>3</sub>-N determined by Salicylate-Spectrophotometric method

NO <sub>2</sub> 浓度/ (mol · L <sup>-1</sup> ) Concentration of NO <sub>2</sub>	消光值 Absorbance		NO <sub>2</sub> 浓度/ (mol · L <sup>-1</sup> ) Concentration of NO <sub>2</sub>	消光值 Absorbance	
	不加氨磺酸铵 Without ammonium sulfamate	加氨磺酸铵 With ammonium sulfamate		不加氨磺酸铵 Without ammonium sulfamate	加氨磺酸铵 With ammonium sulfamate
0	0.235	0.238	0.5	0.842	0.238
0.001	0.244	0.239	1	-	0.242
0.002	0.257	0.230	2	-	0.248
0.005	0.325	0.235	5	-	0.386
0.1	0.525	0.243	8	-	0.531
0.2	0.683	0.231	10	-	0.615

2.8 改进水杨酸比色法对土壤及水体样品的标定

结果(图 3)表明, 水杨酸法和酚二磺酸法、流动分析仪的分析结果间具有很好的一致性。3 种方法测定的结果之间的回归方程为

$$y = 1.0547x + 1.6881, r^2 = 0.9635^{**} (n =$$

22);

$$y = 0.86x - 0.674, r^2 = 0.9531^{**} (n = 22)。$$

从方程的系数可以看出, 水杨酸比色法测定的结果比酚二磺酸比色法测定的结果高, 而比流动分析仪测定的结果低, 其结果更接近实际值。

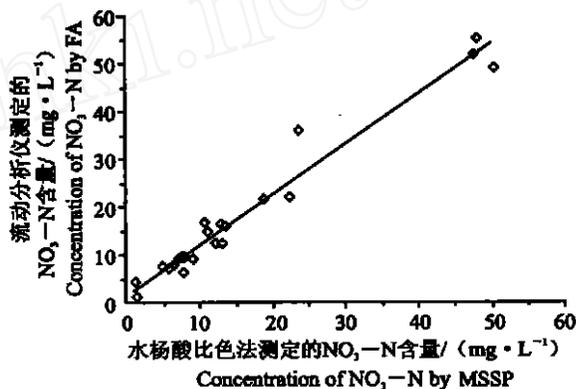
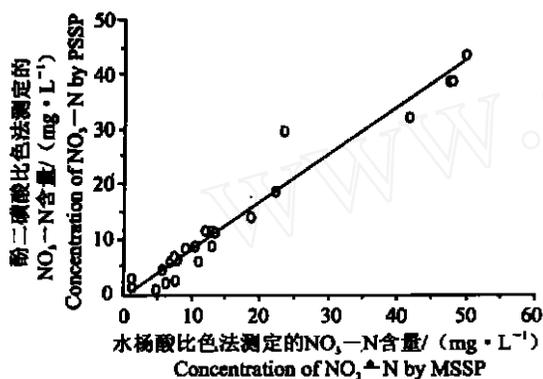


图 3 水杨酸比色法与酚二磺酸比色法、流动分析仪测定土壤及水体样品中 NO<sub>3</sub>-N 含量间的相关性

Fig. 3 Correlation between the results of NO<sub>3</sub>-N content determined by Salicylate-Spectrophotometric method and Phenol-sulfonic acid-Spectrophotometric method and flow analyzer

3 结 论

1) 试验从 6 个方面研究了测定 NO<sub>3</sub>-N 的快速水杨酸法。结果表明, 快速水杨酸法可有效地测定土壤及水体中的 NO<sub>3</sub>-N。经过简化改进, 避免了冗长的水浴过程, 掩蔽了一定浓度 Cl<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub> 的潜在干扰。该法适应 pH 范围广 (pH > 2), 试剂用量少, 灵敏度高, 重现性好, 且无需昂贵的仪器。水杨酸法测定结果与酚二磺酸法、流动分析仪结果具有很高的一致性, 可作为测定 NO<sub>3</sub>-N 含量的一种简便方法。

2) 推荐操作步骤: 吸取 1 mL (含 0~7 mg NO<sub>3</sub>-N) 待测液置于 15 mL 试管中, 然后向试管中

加入 0.5 mL 水杨酸钠混合试剂, 摇匀, 置于 180 烘箱中蒸干, 取出, 稍微冷却; 用 1 mL 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 润湿残渣, 摇动, 使浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与所有残渣全部接触, 静置 5 min; 沿管壁向试管中缓慢加入 5 mL 蒸馏水, 摇匀, 静置并冷却 (在加入质量分数 30% NaOH 前必须摇匀、冷却); 沿管壁加入 5 mL 质量分数 30% NaOH 溶液, 摇匀, 冷却, 410 nm 波长用厘米比色皿测定吸光值; 绘制工作曲线, 吸取 5 mL 100 mg/L 的 NO<sub>3</sub>-N 标准贮备液, 定容于 50 mL 容量瓶中, 即为 10 mg/L 标准液。分别吸取 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 mL 10 mg/L 的 NO<sub>3</sub>-N 标准液, 定容于 10 mL 容量瓶中, 然后按照步骤 ~ 操作, 绘制工作曲线。

## [参考文献]

- [1] Yang J E, Skogley E O, Schaff B E, et al A simple spectrophotometric determination of nitrate in water, resin, and soil extracts[J]. *Soil Sci Soc AM J*, 1998, 62: 1108- 1115
- [2] Olah G A, Malhotra R, Narang S C. *Nitration: Methods and Mechanisms*[M]. New York: VCH Publ, 1989
- [3] Sudowski E A comparative study on the determination of nitrates in water with phenoldisulphonic acid and with ortho-toluidine[J]. *Rzeczelniki Państwowego Zakładu Higieny*, 1969, 20: 527.
- [4] Scheiner D. A modified version of the sodium salicylate method for analysis of wastewater nitrates[J]. *Water Res*, 1974, 8: 835- 840
- [5] Volhardt K P C. *Organic Chemistry*[M]. New York: W H Freeman & Co, 1987.
- [6] 布伦纳 J M. 土壤氮素分析法[M]. 曹亚澄译 北京: 农业出版社, 1987.
- [7] 南京农业大学. 土壤农化分析[M]. 第2版 北京: 农业出版社, 1986
- [8] 北京农业大学, 西北农业大学. 分析化学[M]. 北京: 农业出版社, 1979

## Determination of nitrate using a rapid and modified Salicylate-Spectrophotometric method

DUAN Jian-jun<sup>1</sup>, ZHOU Jian-bin<sup>1</sup>, WANG Guo-dong<sup>2</sup>, HU Pu-hui<sup>3</sup>, LIU Yan-feng<sup>3</sup>

(1 College of Resources and Environment, 2 College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;  
3 Yangling Vocational and Technology College, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Factors such as pH,  $Cl^-$ ,  $NO_2^-$  affecting the determination of nitrate with salicylate are discussed in this paper, and the linearity is also ascertained. The result of this study shows that: (1) The apex of the absorbance curve is 410- 420 nm, even nitrate of 0.1 mol/L can be detected. It is about 2- 5 times sensitive than; (2) The stability of the color is high, and color intensity has no striking changes even after 15 days under a plug-covered conditions; (3) The critical pH of modified method is over 2, below which color development was strongly inhibited. And it can screening the interference of more than 0.1 mol/L  $Cl^-$  and 2 mg/L  $NO_2^-$ . The improved method of determination of nitrate with salicylate is simple, rapid and accurate, and can be used for the analysis of  $NO_3^-$  in soils and water.

**Key words:** determination of nitrate; determining method; salicylate-spectrophotometric method