

# 偶氮类试剂在分光光度法测定水中重金属的应用

王少伟<sup>1</sup>, 张媛媛<sup>1</sup>, 张升晓<sup>2</sup>

(1.山东省烟台生态环境监测中心, 山东 烟台 264004; 2.鲁东大学 化学与材料科学学院, 山东 烟台 264039)

**摘要:** 本文分别以 1-(2-吡啶偶氮)-2-萘酚-6-磺酸(PAN-S)、4-(2-吡啶偶氮)间苯二酚(PAR)和 2,7-双(2-苯胂酸-1-偶氮)变色酸(偶氮胂Ⅲ)作为显色剂构建了分光光度体系,测定了水质中的铜、钴、铅和锌等金属离子。实验中对所用的分光体系的最大吸收波长、缓冲溶液 pH 和体积的选择、显色剂体积、显色时间等进行了比较和优化,并建立了标准曲线,测定样品结果和 ICP-MS 的结果比较,具有较高的准确性。

**关键词:** 分光光度法; 偶氮类; PAN-S; PAR; 偶氮胂Ⅲ

**中图分类号:** X832    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1673-8020(2021)04-0343-05

在城市化、工业化快速发展的今天,重金属成为水质污染产生的主要因素,对生产、生活用水造成了极大的威胁<sup>[1-4]</sup>。水中重金属可被藻类、鱼虾和贝壳类生物吸收,通过食物链浓缩富集进入人体之后,重金属可与人体内的蛋白质及各种酶相互作用,降低它们的活性,同时也会在肝脏等重要器官进行富集,造成人体急性中毒,危害身心健康<sup>[5-7]</sup>。此外,在底泥理化特性及环境因素的影响下,重金属的不同化学形态形成一个动态平衡,并随环境条件的变化随时转化和释放,造成更为持久的污染<sup>[8]</sup>。因此,快速简单、精确的检测水环境中的重金属离子具有重要意义。

目前,测定重金属的方法有电化学分析法<sup>[9-10]</sup>、荧光光谱法<sup>[11-12]</sup>、原子吸收光谱法<sup>[13]</sup>、电感耦合等离子体发射光谱法<sup>[14-15]</sup>、质谱法<sup>[16]</sup>和分光光度法<sup>[17-19]</sup>。这些方法具有检出限低、灵敏度高、选择性好等优点,在重金属分析中发挥着极其重要的作用。但是,部分分析方法所用设备价格较为昂贵,对分析人员要求具有很高的操作水平,例如质谱仪;同时这些测定方法需要在实验室开展工作,不利于在现场开展对水样的快速检测工作。分光光度法是基于物质对光的选择性吸收而建立起来的一种分析方法<sup>[20]</sup>,作为一种经典的方法用于多数金属元素的测定,并以其简便、快捷、准确、灵敏度高的特点,受到广泛的应用。目

前,合成和应用灵敏度高、选择性好的显色剂成为分光光度法的核心发展方向。偶氮类显色剂是一类含有偶氮基(—N=N—)的有色物质,当与金属离子生成配合物后,颜色发生明显变化,因其具有性质稳定、显色反应灵敏度高、选择性好、对比度大等优点,应用广泛。

本文以多种偶氮类试剂作为显色剂,主要包括 1-(2-吡啶偶氮)-2-萘酚-6-磺酸(PAN-S)、4-(2-吡啶偶氮)间苯二酚(PAR)、2,7-双(2-苯胂酸-1-偶氮)变色酸(偶氮胂Ⅲ),构建了多个分光光度测定体系,测定包括铜、钴、铅和锌等在内的多种金属离子。实验中对各个体系中包括波长、pH、缓冲溶液用量、显色时间等的实验条件进行了考察和优化,并在最佳条件下绘制了校准曲线,测定了实际样品和加标样品,并将测定结果与电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS,美国)测定结果对比。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器和装置

T6 新悦分光光度计,PHBJ-261L 便携式 pH 计,安捷伦 7900 ICP-MS(美国)。

## 1.2 主要试剂

钴、铜、铅、锌标准贮备液( $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 购买自上海安谱公司,移取各标准储备液  $5.00 \text{ mL}$  到  $250 \text{ mL}$  容量瓶中,用去离子水定容至刻度,摇匀,得到标准中间液,不同浓度的标准系列溶液,用中间液逐级稀释配置。

分别称取  $0.1000 \text{ g}$  PAN-S、PAR 和偶氮胂 III 溶于去离子水,定容到  $250 \text{ mL}$ ,得到  $0.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 PAN-S、PAR 和偶氮胂 III 溶液。将  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  乙酸溶液与  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  乙酸钠溶液按照比例混合,用 PHBJ-261L 便携式 pH 计进行测量。将  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氨水溶液和  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氯化铵溶液按照比例混合,用 PHBJ-261L 便携式 pH 计进行测量。实验中所用水均为去离子水。

## 1.3 实验方法

PAN-S 显色测定铜/钴分光光度体系:取  $25 \text{ mL}$  具塞闭塞管,依次加入 PAN-S 溶液、乙酸-乙酸钠系列缓冲溶液和铜/钴标准溶液,去离子水稀释至标线,缓慢颠倒几次,混匀。室温静置一段时间,用  $1 \text{ cm}$  比色皿,以试剂空白为参比,于各自最大吸收波长测量吸光度。

PAR 显色测定铅/锌分光光度体系:取  $25 \text{ mL}$  具塞闭塞管,依次加入 PAR 溶液、氨水-氯化铵系列缓冲溶液和铅/锌标准溶液,去离子水稀释至标线,缓慢颠倒几次,混匀。室温静置一段时间,用  $1 \text{ cm}$  比色皿,以试剂空白为参比,于各自最大吸收波长测量吸光度。

偶氮胂 III 显色测定铜/锌分光光度体系:取  $25 \text{ mL}$  具塞闭塞管,依次加入偶氮胂 III 溶液、乙酸-乙酸钠系列缓冲溶液/氨水-氯化铵系列缓冲溶液和铜/锌标准溶液,去离子水稀释至标线,缓慢颠倒几次,混匀。室温静置一段时间,用  $1 \text{ cm}$  比色皿,以试剂空白为参比,于各自最大吸收波长测量吸光度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 波长的选择

为使测定体系有高灵敏度,在选择入射波长时应依据吸收最大、干扰最小的原则,且显色剂对

光的吸收与络合物对光的吸收要有明显区别。实验中,在  $360 \sim 660 \text{ nm}$  波长范围内进行光谱扫描,考察了以水作为参比溶液时,测定显色剂溶液和显色剂-金属离子络合物溶液各自的吸光度,绘制趋势线;同时考察了以显色剂溶液作为参比溶液,测定显色剂-金属离子络合物溶液的吸光度,绘制趋势线,最终选择出各体系的吸收波长,结果如表 1 所示。

表 1 偶氮类试剂测定金属离子的吸收波长

Tab.1 Maximum absorption wavelength in each azo spectrophotometric system

显色剂	PAN-S		PAR		偶氮胂 III	
金属离子	铜	钴	铅	锌	铜	锌
波长/nm	550	570	520	495	610	610

### 2.2 缓冲溶液的选择

实验中显色剂与金属离子生成的显色剂-金属离子络合物的稳定性是分光光度体系的核心,直接决定着系统的可行性以及稳定性。缓冲溶液的酸度对显色剂和被测金属离子均具有重要的影响。大多数显色剂是有机弱酸,不同酸度下具有不同的离解常数和不同的存在型体而产生不同的吸收。大部分的金属离子易水解并形成一系列水合离子,不利于显色反应定量完成。因此对一个显色反应应该首先确定一个最合适的酸度范围。根据实验方法,改变缓冲溶液的酸度,分别测定体系的吸光度,考察了缓冲溶液酸度和加入缓冲溶液的体积对体系的影响,结果见表 2。

表 2 偶氮类试剂-金属离子分光体系缓冲溶液 pH 及加入体积

Tab.2 pH and volume of buffer solution in each azo spectrophotometric system

分光体系	缓冲溶液类型	缓冲溶液 pH	缓冲溶液体积/mL
PAN-S/铜	乙酸-乙酸钠缓冲溶液	5.0	2.00
PAN-S/钴	乙酸-乙酸钠缓冲溶液	4.7	2.00
PAR/铅	氨水-氯化铵缓冲溶液	10.0	4.00
PAR/锌	氨水-氯化铵缓冲溶液	8.9	4.00
偶氮胂 III/铜	乙酸-乙酸钠缓冲溶液	6.2	2.00
偶氮胂 III/锌	氨水-氯化铵缓冲溶液	10.1	3.50

### 2.3 显色剂体积的选择

在分光光度体系中,通常根据同离子效应以增加显色剂用量的方式促使显色反应尽量完全,

但显色剂的用量并非越多越好,显色剂浓度过高可能会改变配合物中被测物与显色剂的组成比例,影响到体系的显色程度。经过实验中通过加入不同体积的显色剂溶液,测定体系对应不同体积显色剂时的吸光度,考察显色剂体积对体系吸光度的影响,最终都选择加入 2.00 mL。

### 2.4 显色时间

显色时间是影响分光光度体系稳定性和准确性的一个重要因素,由于体系中各物质间的化学反应速度不同,因而完成反应所需的时间也存在较大差别。显色时间太短,造成反应不完全;若是显色时间太久,则有可能造成显色达到高峰后淬灭。因此,实验中进行了显色时间的优化,并得出吸光度  $A$  与稳定时间  $t$  关系的时间影响曲线,如

图 1 所示。结果显示:在 PAN-S 测定铜和钴离子分光光度体系中,PAN-S/铜和 PAN-S/钴的络合物均在 5 min 时到达峰值,且吸光度在 5 min 之后基本稳定,本实验中 PAN-S 测定铜和钴离子显色时间选择为 5 min;在 PAR 测定铅和锌离子分光光度体系中,PAR/铅和 PAR/锌的络合物均在 5 min 时到达峰值,PAR/锌分光体系吸光度之后基本稳定,PAR/铅分光体系吸光度淬灭,本实验中 PAR 测定铅和锌离子显色时间选择为 5 min;在偶氮胍 III 测定铜和锌离子分光光度体系中,偶氮胍 III/铜络合物吸光度 15 min 到达峰值后开始淬灭,偶氮胍 III/锌络合物吸光度 15 min 到达峰值后基本稳定,本实验中偶氮胍 III 测定铜和锌离子显色时间选择为 15 min。

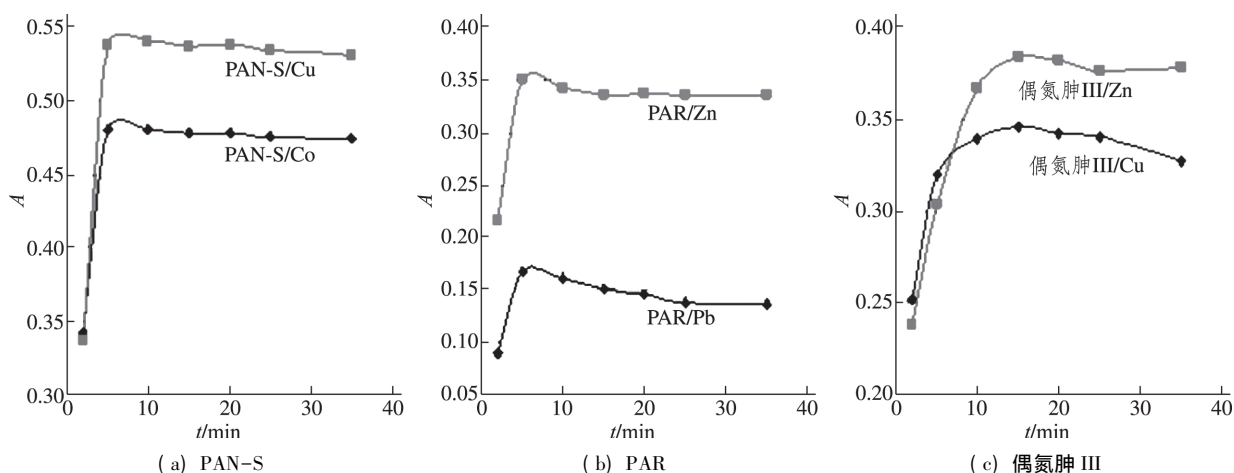


图 1 PAN-S, PAR, 偶氮胍 III 分光体系测定金属离子显色时间

Fig.1 Chromogenic time of each azo spectrophotometric system

### 2.5 工作曲线

根据光的吸收定律:吸光度与吸光物质的含量成正比,这是光度法进行定量的基础,标准曲线

就是根据这一原理制作的。在选择的实验条件下,将含有不同量的待测金属离子标准溶液加入一组 25 mL 容量瓶中,按实验方法显色后测定体系的吸光度,校准曲线如表 3 所示。

表 3 偶氮类试剂-金属离子分光体系校准曲线

Tab.3 Fitting curve of each azo spectrophotometric system

分光体系	拟合方程	拟合范围/( $\mu\text{g} \cdot 25\text{mL}^{-1}$ )	相关系数
PAN-S/铜	$A = 0.001 + 0.012C$	0~80	0.999
PAN-S/钴	$A = 0.050 + 0.012C$	0~40	0.999
PAR/铅	$A = 0.002 + 0.004C$	0~60	0.999
PAR/锌	$A = -0.003 + 0.021C$	0~40	0.999
偶氮胍 III/铜	$A = 0.009 + 0.012C$	0~50	0.999
偶氮胍 III/锌	$A = 0.070 + 0.005C$	0~80	0.999

## 2.6 方法比对

为了验证本实验中所构建分光光度体系在检测实际样品时的适用性、可靠性,将样品测定结果与 ICP-MS 测定结果进行比对,结果见表 4。由

表 4 可见,测定体系的平行样相对偏差范围是 2.0%~7.7%,具有良好的精密度;样品加标回收率范围是 91.7%~107%,与 ICP-MS 测定结果相比,相对误差在 -7.7%~6.8%,具有较好的结果准确性。

表 4 方法比对及回收率  
Tab.4 Comparison of different methods

项目	体系	分光光度法/( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )				ICP-MS/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	方法 相对偏差/%		
		测定结果	相对偏差/%	平均值	加标 回收率/%				
铜	PAN-S	1#样品	147 153	2.0	150	200	103 97.0	156	-3.8
		2#样品	207 220	3.0	214	200	103 104	223	-4.0
	偶氮胂 III	1#样品	440 423	2.0	432	400	105 104	455	-5.0
		2#样品	240 227	2.8	234	200	93.3 91.7	219	6.8
钴	PAN-S	1#样品	70 60	7.7	65	100	107 103	70	-7.1
		2#样品	137 127	3.8	132	200	103 98.3	143	-7.7
铅	PAR	1#样品	250 230	4.2	240	200	105 95.0	229	4.8
		2#样品	290 270	3.6	280	200	105 105	266	5.3
锌	PAR	1#样品	70.5 76.2	3.9	73.4	100	93.3 105	78.2	-6.1
		2#样品	114 128	5.8	121	100	107 97.1	130	-6.9
	偶氮胂 III	1#样品	376 344	4.4	360	400	94.0 106	382	-5.8
		2#样品	88 80	4.8	84	100	104 96.0	87.3	-3.8

## 3 结论

本文选取了 PAN-S、PAR 和偶氮胂 III 三种偶氮类试剂作为显色剂构建了分光光度体系,用于测定钴、铜、铅和锌四种金属离子。通过改变实验条件和最大吸收波长,一种显色试剂可用于多种金属离子的测定,而且对于同一种金属离子可以通过改变显色剂的类型得到更适合的分光测定体系。利用建立的标准曲线,测定了实际水样中金属离子的含量,加标回收率在 91.7%~107%,测定结果与 ICP-MS 的结果对比具有良好的准确性。

### 参考文献:

[1] WEISS S, REEMTSMA T. Membrane bioreactors for mu-

nicipal wastewater treatment: a viable option to reduce the amount of polar pollutants discharged into surface waters [J]. *Water Research* 2008, 42(14): 3837-3847.

[2] FILIPPATOS G, FARMAKIS D, COLET J C, et al. Intravenous ferric carboxymaltose in iron-deficient chronic heart failure patients with and without anaemia: a subanalysis of the FAIR-HF trial [J]. *European Journal of Heart Failure* 2013, 15(11): 1267-1276.

[3] BING H, WU Y, ZHOU J, et al. Mobility and eco-risk of trace metals in soils at the Hailuoguo Glacier foreland in Eastern Tibetan Plateau [J]. *Environmental Science and Pollution Research* 2015, 23(6): 1-12.

[4] 谢晓君, 王方园, 王光军, 等. 中国地表水重金属污染的进展研究 [J]. *环境科学与管理* 2017, 42(2): 1

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

[5] 黄光明. 补铁过量危害多 [J]. *广东微量元素科学*, 2005, 12(1): 49.

- [6] 王懿.食品中重金属对人体的危害及预防探析[J].现代食品,2016,4(8):27-29.
- [7] 游勇,鞠荣.重金属对食品的污染及其危害[J].环境,2007(2):102-103.
- [8] 曹洁.浅析土壤重金属元素的来源、危害及化学修复[J].化学工程与装备,2015(6):208-210.
- [9] SONG Y, SWAIN G M. Total inorganic arsenic detection in real water samples using anodic stripping voltammetry and a gold-coated diamond thin-film electrode[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 593(1):7-12.
- [10] 李巧云,史焯俊. Fe(III)-KIO<sub>4</sub>-苋菜红体系催化动力学扫描示波极谱法测定痕量铁[J].分析测试学报,2006,25(1):102-104.
- [11] 马红燕,陈小利,孙雪花,等.铁(III)-氧氟沙星-SDS三元体系的荧光特性及应用[J].分析科学学报,2005,21(2):161-163.
- [12] KIM H N, REN W X, SEUNG J, et al. Fluorescent and colorimetric sensors for detection of lead, cadmium and mercury ions[J]. Chemical Society Reviews, 2012, 41(8):3210-3244.
- [13] 高燕,刘英.石墨炉原子吸收法测定高纯硒中痕量铁[J].分析实验室,2007,26(3):26-29.
- [14] 其其格,赵源,高娃,等.电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES)法测定牛奶及奶制品中的微量元素[J].中国乳品工业,2009,37(2):61-64.
- [15] 段旭川.在线化学蒸气发生-电感耦合等离子体原子发射光谱法测定废催化剂中的微量铊[J].分析化学,2010,38(38):421-423.
- [16] PUSCH W, FLOCCO M T, LEUNG S M, et al. Mass spectrometry-based clinical proteomics[J]. Pharmacogenomics, 2017, 4(4):463-470.
- [17] 梁波,王蓉佳,蔡荣.分光光度法测定二甲硅油中的重金属[J].中国药品标准,2020,21(4):326-328.
- [18] 沈宁光,周玲,朱丽丽,等.紫外分光光度法测定地龙中重金属的含量[J].广东微量元素科学,2005,12(7):48-51.
- [19] 龙四新.水质检验中的重金属测定方法分析探讨[J].医药前沿,2017,7(27):362-363.
- [20] 武汉大学.分析化学[M].4版.北京:高等教育出版社,2000.

## Application of Azo Chromogenic Reagents in Determination of Heavy Metals in Water by Spectrophotometry

WANG Shaowei<sup>1</sup>, ZHANG Yuanyuan<sup>1</sup>, ZHANG Shengxiao<sup>2</sup>

(1. Yantai Ecological Environment Monitoring Center of Shandong Province, Yantai 264004, China;

2. School of Chemistry and Materials Science, Ludong University, Yantai 264039, China)

**Abstract:** In this paper, 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol-6-sulphonic acid (PAN-S), 4-(2-pyridylazo) resorcinol (PAR) and Arsenazo III were used as azo chromogenic reagents to develop spectrophotometric systems for the determination of copper, cobalt, lead and zinc in water. The maximum absorption wavelength, pH and volume of buffer solution, volume of chromogenic agent and chromogenic time were compared and optimized. The fitting curves of each spectrophotometric system were established and the determination results were compared with the results determined with a ICP-MS, showing high accuracy.

**Keywords:** spectrophotometry; azo chromogenic reagents; PAN-S; PAR; Arsenazo III

(责任编辑 刘军深)