



姜黄素分光光度法测定水中硼的优化检测条件研究

邢书才, 杨永, 岳亚萍

(国家环境保护污染物计量和标准样品研究重点实验室 环境保护部标准样品研究所, 北京 100029)

摘要: 针对姜黄素光度法测定水中硼分析方法存在的问题, 研究和优化分析测定的实验条件。采用方法研究的方式, 对样品显色反应的蒸发条件进行改良, 用普通烘箱替代水浴条件, 对样品进行显色和蒸发处理; 同时, 通过对分析方法校准曲线标准点的重新设置, 拓宽方法测定范围, 也使校准曲线的线性以及精密度得以显著提高。补充试剂空白试验, 增加测定下限处的标准点; 并从分析测定质量控制角度, 对校准曲线制备中, 0.10~1.00 mL 标准溶液过小的加入量进行改进, 变为统一体积量的一致性加入, 减小了分析误差的几率。研究结果表明, 改良后的实验条件, 分析方法的检出限为 0.019 mg/L, 测定下限为 0.076 mg/L; 测定范围为 0.080~1.4 mg/L, 比改进前拓宽了 40%。精密度测定结果相对标准偏差小于 3.0%, 准确度的检验结果符合方法学的技术要求。改进后的分析方法, 测定下限低, 范围广, 灵敏度高; 适合于水和废水中硼的分析测定。

关键词: 硼; 姜黄素; 分光光度法; 测定条件

中图分类号: O657.3; X832

文献标志码: A

文章编号: 1674-5124(2019)06-0065-05

Study on the optimizing conditions for determining boron in water by curcumin spectrophotometry

XING Shucui, YANG Yong, YUE Yaping

(State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Pollutant Metrology and Reference Materials Study, Institute for Environmental Reference Materials of Ministry of Environmental Protection, Beijing 100029, China)

Abstract: Addressing the existing problems in the determination of boron in water by curcumin spectrophotometry, the experimental conditions of assay determination were studied and optimized. Using method research, the evaporation condition of the color reaction of the sample was improved. The water bath condition was replaced by a common oven, and the sample was subjected to color development and evaporation. At the same time, the method was further adjusted by re-setting the standard point of calibration curve of the assay to expand the measurement range, as well as significantly increase the linearity and precision of the calibration curve. The reagent blank test was added to increase the standard point at the lower limit of the measurement. From the perspective of quality control of assay determination, the addition amount of the 0.10-1.00 mL standard solution was improved in the calibration curve preparation, from an amount too small to a uniform amount at one time, avoiding and reducing the chance of assay errors. The results showed that the detection limit of the improved experimental conditions was 0.019 mg/L, the lower limit of measurement

收稿日期: 2019-01-22; 收到修改稿日期: 2019-03-05

基金项目: 生态环境部国家标准制修订项目(2018-16)

作者简介: 邢书才(1958-), 男, 北京市人, 教授级高级工程师, 主要从事环境监测和国家标准的研究。

0.076 mg/L, and the measurement range 0.080-1.4 mg/L, which was 40% wider than that before the improvement. The relative standard deviation of the precision measurement results was less than 3.0%, and the accuracy test results were in accordance with the technical requirements of the methodology. The improved assay method with a lower limit of measurement, wide measurement range, and High sensitivity, is suitable for the assay determination of boron in water and wastewater.

Keywords: boron; curcumin; spectrophotometry; determination condition

0 引言

分光光度法测定水和废水中硼,是环境监测和分析检测实验室普遍采用的分析方法。现行检测硼的标准分析方法,主要有 GB/T5750.5—2006《生活饮用水标准检验方法无机非金属指标》和 HJ/T49-1999《水质硼的测定姜黄素分光光度法》^[1-2]。其中姜黄素分光光度法作为国家环境保护标准分析方法,已经实施了近 20 年;在分析测定应用中,显现出该方法操作较为繁琐,实验条件比较苛刻,需在无水条件下进行。同时存在校准曲线的试剂空白缺失,测定下限与实际情况偏离较远,测定范围过于狭窄,以及样品和校准曲线制备中取样量过小,易于产生分析误差等问题;这些因素都不同程度地影响到分析测定的质量。分光光度法测定硼的分析实验,以往已有一些文献报道^[3-11],对于姜黄素光度法测定水中硼的研究,文献报道较少,且主要涉及分析方法的应用和方法比方面^[12-15];对分析方法中存在问题的改进性研究,近年来未见有报道。本工作针对姜黄素分光光度法存在的问题,进行了方法改进和针对性研究;简化了样品显色和蒸发装置,补充了试剂空白,降低了测定下限,拓展了分析方法的测定范围;实验操作质量控制方面的改进,改善了校准曲线线性不理想、回归系数较差的问题,提高了校准曲线的精密度;使分析测定的实验条件得到优化,提高了分析测定的精密度和准确度,取得了满意结果。

1 实验部分

1.1 主要设备

Cary300UV-Vis 型光谱仪(安捷伦);塑料烧杯、试剂瓶、25 ml 成套具塞(PP)塑料比色管,日本 NIKKO 公司生产;移液管、容量瓶(PP 材质,Brand);瓷蒸发皿;恒温水浴槽;恒温烘箱。所有器皿不得使用含硼玻璃材质器皿。

1.2 主要试剂

硼标准贮备液(1000 mg/L)(钢研纳克,

AccuStandard);硼标准使用液(1.00 mg/L, 10.00 mg/L);硼标准样品(GSB 07-1979-2005);盐酸,草酸,姜黄素,无水乙醇(AR,上海化学试剂有限公司)。

姜黄素+草酸溶液:于 80 mL 无水乙醇中加入草酸 5.0 g 及姜黄素 0.040 g,溶解后再加入浓盐酸 4.2 mL,移入 100 mL 容量瓶用乙醇定至刻度。

1.3 实验方法

1.3.1 校准曲线的制备

1)原方法:按照 HJ/T 49—1999《水质硼的测定姜黄素分光光度法》的实验步骤,配制各标准点浓度溶液,测定后制备校准曲线。测定体系的浓度按照总体积为 1.00 mL 计算。

操作方法:向一系列蒸发皿中分别加入 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 mL(1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的硼标准使用液,并分别加入 0.80, 0.60, 0.40, 0.20 mL 去离子水,使溶液总量为 1 mL,分别加入姜黄素-草酸溶液 4.0 mL,将蒸发皿轻轻摇动使溶液混匀,置蒸发皿于(55 \pm 3) $^{\circ}\text{C}$ 的水浴上蒸发至干,并继续于水浴上保留 15 min 后取下蒸发皿,放置至室温后,用少量乙醇溶解并转入 25 mL 比色管中,用乙醇稀释至刻度,离心后,用 2 cm 比色皿,于波长 540 nm 处,以纯水为参比,测定吸光度。

2)改进法:参照 HJ/T 49—1999《水质硼的测定姜黄素分光光度法》的条件步骤,改变标准使用液的加入方法,最终用一致性体积的加入方法,制备校准系列溶液;加入显色剂后改用在(55 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中蒸发至干,然后按分析步骤进行测定,绘制校准曲线。测定体系的浓度按照总体积为 1.00 mL 计算。

操作方法:在 7 个 100 mL 容量瓶中,分别加入 10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的硼中间液 0.00, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00, 12.00, 14.00 mL,以纯水定容摇匀,1~7 号容量瓶中硼的浓度为 0.00, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80, 1.20, 1.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$;各取 1.00 mL 于 1~7 号蒸发皿中,

1~7 号蒸发皿中含有硼的质量为 0.00, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80, 1.20, 1.40 μg , 分别加入姜黄素-草酸溶液 4.0 mL, 将蒸发皿轻轻旋转使溶液混匀, 然后将蒸发皿置于 $(55\pm 1)^\circ\text{C}$ 的烘箱中蒸发至干, 继续保持 15 min, 取出蒸发皿, 冷却至室温, 用少量乙醇溶解后转入 25 mL 比色管中, 用乙醇稀释至刻度, 离心后, 用 2 cm 比色皿, 于波长 540 nm 处, 以纯水为参比, 测定吸光度。

1.3.2 样品的测定

1) 原方法: 吸取样品 1.0 mL (硼含量不超过 1.0 μg) 于蒸发皿中, 以下按 1.3.1 的 1) 的实验程序测定, 将吸光值带入 1.3.1 的 1) 校准曲线中计算出硼浓度值。

2) 改进法: 吸取样品 1.0 mL (硼含量不超过 1.4 μg), 按 1.3.1 的 2) 实验程序测试, 把吸光值带入 1.3.1 的 2) 校准曲线中计算出硼浓度值。

2 结果与讨论

2.1 检定下限与检定范围的改良

对改进前及改进后的检测方法制备的系列浓度标准点进行测定, 并分别制备校准曲线 (如图 1、图 2 所示) 进行比对分析。

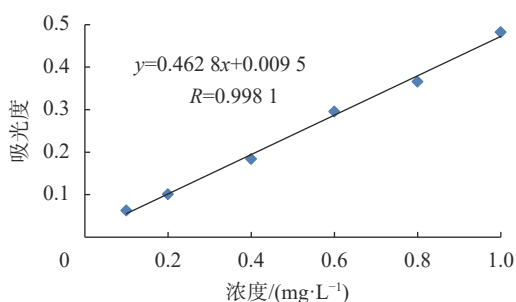


图 1 改进前校准曲线

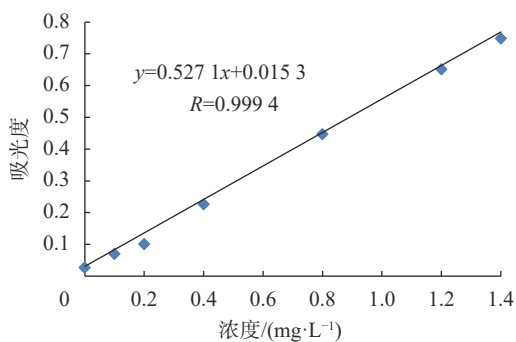


图 2 改良后校准曲线

按分析方法标准制修订技术导则的相关规定^[6], 分析方法的检出限可由校准曲线的参数计算: 检出限 = $0.01 \times b^{-1}$ (检测下限为 4 倍的检出限)。

由此可计算出原方法的检出限和检测下限分别为 0.022 mg/L 和 0.086 mg/L; 改良后方法的检出限和检测下限分别为 0.019 mg/L 和 0.076 mg/L, 较原方法降低了近 14% 左右。

从检测范围上, 改进前后方法的检测范围分别为 0.10~1.0 mg/L 和 0.080~1.4 mg/L, 改良后校准曲线线性良好, 精密度较高, 检测范围较原方法拓宽了 40% 之多。

2.2 蒸发装置和质量控制的改进

由图 1 可见, 改进前方法的校准曲线, 线性欠佳, 数次重复性实验, 线性均不理想。原因有多方面, 实验过程操作较为繁琐复杂, 校准曲线制备过程取样量过小, 以及被测样品取样量过小都蕴含分析误差因素。实验中样品所需蒸发时间, 蒸发的速度, 脱水等条件, 都要求有较高的一致性程度。前消解中稍有操作不当容易造成样品损失甚至实验失败的结果。同时, 冗长复杂的操作以及显色基团稳定性原因, 都可能造成实验分析误差。

以取样量误差分析, 原方法校准系列的取样量为 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 mL, 还要分别补水至 1.00 mL 的过程。以 1.00 mL 为例, 在取样过程如果出现 1 滴溶液 (约 0.05 mL) 的损失, 造成的相对误差为 5%。相对于 0.20, 0.40, 0.60 mL, 将会造成更大的误差。为了控制取样量的误差因素, 本研究预先配制与校准系列浓度相同的系列浓度标准使用液, 采用在 7 个蒸发皿中一致性加入 1.00 mL 标准使用液的方法, 对取样量的误差因素进行控制 (详见 1.3.1.2))。从图 2 可见, 经重复性比对实验, 改进后分析方法的校准曲线, 从线性质量和精密度上都有了较大提高。

同时, 对方法实验的蒸发装置进行了改进。原分析方法是利用水浴控制 $(55\pm 3)^\circ\text{C}$, 对样品进行显色和蒸发脱水。现改为在烘箱中进行这一步骤, 其优点在于相对于水浴, 空气的热传导是多方向传导, 可使样品反应受热更均匀, 温度更加易于控制; 样品置于烘箱的托盘之中, 相对于水浴, 更加有利于样品的安全性, 也相对降低了实验成本, 更有利于大批量样品的处理。

2.3 校准曲线标准点设置上的改进

对于一种相对测定的分析方法, 分光光度法的校准曲线, 其中标准点的设置有特定的规则和技术上的要求。根据精密度要求, 标准浓度点在布置上

要中间范围稀少,而在曲线的两端相对性地密集设置,改良前校准曲线在标准点的分布上,采用的是等均匀性方式设定(见图1);改良后的校准曲线采用的是中部疏散两端密集的布置方式,并根据实际测定下限的测定值设定定量下限浓度点,有利于低浓度样品的测定;益于校准曲线的质量及精密度的提高,符合分析测定质量控制和方法学要求^[16-17]。实际测定结果也表明,相对于原测定方法,无论是校准曲线的线性指标,还是曲线的精密度都有了显著性提高,为分析方法的准确测定提供了技术上的支持和基础。

2.4 试剂空白的补充改进

对于分析方法研究,主要涉及分析方法的精密度、准确度和空白分析。可见空白试验是分析方法研究的一个不可缺少的方面。对于分光光度法,是一种相对测定方法,就其试剂空白而言,不仅关系到测定平台问题,也可以通过试剂空白预知和判断试剂干扰情况,也就是分析判断测定体系背景干扰的大小。如上所述,分光光度法作为一种相对测定方法,参比溶液是其中的测定平台,试剂空白往往受到操作环境、仪器状态以及试剂等多方面因素的影响,其中以试剂造成的影响为主。实际测定中,有的分析方法使用纯水为参比,有些分析方法使用试剂空白为参比溶液。在一个实验分析测定过程中,什么情况下使用纯水为参比,什么情况下使用试剂空白为参比,要依具体情况而定。而对试剂空白的测定情况,就是判断以纯水还是试剂空白为参比溶液的重要依据。

姜黄素分光光度法测定水中硼,使用纯水为参比溶液,在校准曲线的制备过程中,校准系列中的试剂空白是缺失的。所带来问题是在实验分析中,无法根据试剂空白的大小判断背景干扰情况,也不利于确认参比溶液的选择或参比溶液的灵活选择。本实验在原测定方法中增加了测定的试剂空白实验,使测定方法中的缺失趋于完整,也使测定方法在整体上更加趋于合理。

经实际重复测定,姜黄素光度法测定水中硼的试剂空白值,吸光度在0.026~0.040左右,试剂空白值稍大,有一定的背景干扰。《水和废水监测分析方法(第四版)》相关方法^[18],使用试剂空白为参比;HJ/T 49—1999《水质硼的测定姜黄素分光光度法》使用纯水为参比。由于考虑到试剂空白值较

高,同时考虑到实验是在乙醇介质中进行,乙醇的易挥发性影响试剂空白作为参比时的稳定性,易使比色皿中参比液的透光率发生改变,使分析测定受到影响;经实际测定,60 min后,试剂空白的吸光度变化了0.004,而纯水未发生变化;相对而言,纯水的稳定性是肯定而相对持续的。因此,在这种前提条件下,以纯水为参比是一种较为适宜的实验条件选择。

2.5 精密度和准确度测定

按照方法研究的基本要求^[16],用硼标准贮备液配制(高、中、低)3种不同浓度样品后进行实际测定,用以验证改良方法精密度情况。准确度的检查,用水质硼标准样品进行实际测定的验证。测定结果分别汇列在表1、表2中。

表1 精密度检定结果

样品浓度/(mg·L ⁻¹)	测定均值/(mg·L ⁻¹)	S/(mg·L ⁻¹)	RSD/%
0.200	0.205	0.005 9	2.9
0.600	0.593	0.013	2.2
1.20	1.21	0.015	1.2

表2 准确度检定结果

方法	测定结果/(mg·L ⁻¹)						\bar{x} / (mg·L ⁻¹)	S/ (mg·L ⁻¹)	RSD/ %
	1#	2#	3#	4#	5#	6#			
改良前法	1.09	1.03	1.07	1.05	1.01	1.03	1.05	0.031	2.9
改良后法	1.05	1.04	1.04	1.00	1.04	1.03	1.03	0.018	1.7
样品 标准值	1.02±0.05								

从表1列出的测定结果可见,对高、中、低3种浓度样品的测定结果显示,测定结果与样品值一致性较好,相对标准偏差最大值小于3%;说明分析方法的精密度良好。

由表2对硼标准样品的测定数据可以看出,原测定方法和改进后测定方法的测定均值,分别为1.05 mg/L和1.03 mg/L,分别用 t 检验法与标准值进行检验,检验结果 $t_{\text{原方法}}=2.31$, $t_{\text{改进法}}=1.40$,均小于临界值 $t_{(0.05,5)}=2.45$ 。说明测定结果与标准值没有显著性差异。同时对改进前和改进后方法测定结果的均值进行 t 检验,检验值 $t_{\text{实验}}=1.37 < t_{(0.05,10)}=2.23$ (临界值),表明改进前和改进后测定方法的测定值间,没有显著性差异。其中改进后方法的测定结果,在技术指标上优于原测定方法。

3 结束语

1)对 HJ/T49-1999《水质硼的测定姜黄素分光光度法》中存在的问题进行了改进性研究。按照方法学的技术要求,研究和改进了姜黄素光度法测定硼的检测条件;对分析方法校准曲线的结构进行了改良,使其标准点的分布得到了更为科学合理性的设置;增加了试剂空白,解决了分析方法中试剂空白的缺失问题,使分析方法的测定平台得到了完善。

2)与原分析方法相比,在拓宽了检测分析测定范围 40% 的同时,也降低了测定下限,提高了测定灵敏度;校准曲线制备中,标准使用液加入量过小易造成分析误差的问题,制备与校准曲线浓度点浓度一致的系列标准溶液,以统一体积量 1.00 mL 的一致性加入,减小了分析误差的几率,使分析测定得到了较为严谨的质量控制;使校准曲线的线性以及精密度有了显著提高。

3)经实际样品测定,改进后分析方法的精密度和准确度符合技术要求。对于显色蒸发装置的改进,以烘箱替代水槽水浴装置,简化了样品显色和蒸发条件,不仅使样品处理过程的安全性增加,也为大批量处理样品创造了条件和降低了成本。

参考文献

- [1] 水质硼的测定姜黄素分光光度法: HJ/T 49-1999[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.
- [2] 生活饮用水标准检验方法无机非重金属指标甲亚胺—H 分光光度法: GB/T5750. 5-2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [3] 周春燕, 伊文涛, 马培华, 等. 微量硼的测定方法研究进展 [J]. 理化检验—化学分册, 2008, 44: 197-201.
- [4] 沈康俊, 蔡友琼, 李冰. 鲜活水产品及其制品中硼含量的测定 [J]. 食品科学, 2012, 33(22): 210-213.
- [5] 刘宇, 魏双. 关于硼的测定方法综述 [J]. 微量元素与健康研究, 2018, 35(2): 74-76.
- [6] 戴钰婷, 高敏, 张冠麟, 等. 微量分析法用于电感耦合等离子体发射光谱法测定含硼键合剂中硼含量 [J]. 分析试验室, 2019, 38(5): 609-612.
- [7] 池卫廷. 硼测定方法的研究现状 [J]. 职业与健康, 2010, 26(03): 335-338.
- [8] 陈淑萍, 王雪征, 茜晓哲, 等. 甲亚胺法测定土壤有效硼的研究 [J]. 土壤学报, 2009, 46(3): 537-540.
- [9] 闫春燕, 伊文涛, 马培华, 等. 微量硼的测定方法研究进展 [J]. 理化检验(化学分册), 2008(2): 197-201.
- [10] 石彦召, 王亮, 李新丽. 土壤肥料中硼的测定方法研究 [J]. 微量元素与健康研究, 2006(5): 42-43.
- [11] 潘方杰, 王宏志, 王璐瑶, 等. 湖北省土壤微量元素县域分异特征及其与健康相关性 [J]. 华中师范大学学报, 2019, 53(1): 137-146.
- [12] 耿薇. 分光光度法测定废酸液中的硼含量 [J]. 分析试验室, 2010, 29(S1): 159-160.
- [13] 刘占广, 程滨, 李景义. 海水淡化过程中硼的测定 [J]. 天津科技大学学报, 2008, 23(4): 23-26.
- [14] 黄雪莲. 温泉水样中硼的测定方法 [J]. 化学工程师, 2018, 32(05): 30-32.
- [15] 轩月兰, 多克辛, 南淑清. 水中硼测定方法比对研究 [J]. 中国环境监测, 2013, 29(02): 75-78.
- [16] 环境监测分析方法标准制修订技术导则: HJ 168-2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [17] 中国环境监测总站. 环境水质监测质量保证手册(第二版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1994: 115.
- [18] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 167.

(编辑:徐柳)