

分光光度法测定微生物处理含硫化物废水中的单质硫含量

李军幸^{1,2}, 张克强², 季民³, 袁志华²

(1. 天津大学化工学院, 天津 300072; 2. 农业部环境保护科研监测所, 天津 300191; 3. 天津大学环境学院, 天津 300072)

摘要 采用分光光度法研发了一种间接测定废水中微生物产生单质硫含量的新方法。该方法是将废水中的单质硫用氯仿萃取, 浓缩, 用无水乙醇溶解, 然后加入过量的亚硫酸氢盐, 反应生成硫代硫酸盐, 再与过量的碘反应, 通过比色测定剩余碘量而间接测定单质硫的含量。结果表明, 该方法简便易行, 结果重现性好, 灵敏度高, 检测限为 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 回收率范围在 97.8%~100.2%。采用液相色谱法对该方法进行了验证, 结果显示 2 种方法测得的数据无显著差异。与液相色谱法相比, 该法灵敏度高, 所需仪器设备简单, 测试费用较低。

关键词 测定; 硫化物废水; 单质硫; 分光光度法

中图分类号 X830.2 **文献标识码** A **文章编号** 1672-2043(2006)01-0261-05

Spectrophotometric Quantification of Sulfur in Sulfide-containing Wastewater Treated with Microbial

LI Jun-xing^{1,2}, ZHANG Ke-qiang², JI Min³, YUAN Zhi-hua²

(1. School of Chemical Engineering & Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Agro-environmental Protection Institute, MOA, Tianjin 300191, China; 3. School of Environmental Science & Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: A spectrophotometric method for indirect quantification of microorganism-produced sulfur in wastewater was developed. Sulfur in wastewater was extracted by chloroform and then evaporated to dryness. The residue was dissolved in ethanol then treated with exceeded bisulphite to convert thiosulfate, the later was reacted with exceeded iodine and the rest was further determined by spectrophotometric method. The results revealed that the present innovative method was characterized by convenience, high sensitivity, high recovery range and well recovered, the limit of detection was as low as $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and the recovery ranged from 97.8% to 100.2%. Furthermore, the spectrophotometric method was well testified by a liquid chromatographic method with no significant difference. And the innovative method was characterized by simple apparatus, high sensitivity, and low cost in comparison with the HPLC method.

Keywords: quantification; wastewater; sulfur; spectrophotometric method

生物法处理含硫化物废水工艺出水中的单质硫是由微生物体内排出的微小颗粒, 由于其悬浮在水中呈胶体状态, 难以自然沉淀, 给其含量测定造成困难。目前, 国内外关于废水中硫化物生物氧化成单质硫的报道中大多采用估算法来计算单质硫的含量及生成率^[1]。据相关文献介绍, 单质硫的测定方法有气相色谱

法^[2]、纸色谱法^[3]、薄层色谱法^[4-6]、X-射线荧光法^[7]、分光光度法^[8]、滴定法^[9]等。但以上方法一般应用于矿物、橡胶、发乳、大气悬浮颗粒等样品中硫的检测。也有报道采用中和法^[10]和薄层扫描法^[11]对中药复方制剂中单质硫含量进行测定。以上方法大多存在灵敏度低、不适合微量组分测定或难以避免其它形态硫干扰等缺点, 不适于测定水体中的单质硫含量。对于水中单质硫含量的测定, T.J.Hurse 等报道采用液相色谱法^[12], 依据硫在紫外光区存在吸收峰而得以测定。但该法灵敏度低, 检测限较高, 对仪器设备要求高, 检测费用偏高。因此, 研究摸索一种较方便、灵敏度高、重现性好

收稿日期 2005-02-24

基金项目 天津市自然科学基金资助项目“富含硫酸盐高浓度有机废水生物处理技术”(013607911)

作者简介 李军幸(1977—), 男, 天津大学化工学院硕士生。

E-mail: ljx77-77@126.com

等特点的测定方法尤为重要。本文探讨了一种比较方便、灵敏度较高的测定废水中的单质硫含量的新方法,即分光光度法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

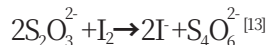
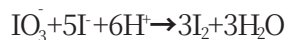
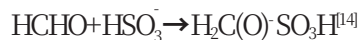
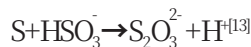
721 分光光度计,电子天平(梅特勒 AE-240,1/100 000),旋转蒸发器(ZFQ-1,天津第三玻璃仪器厂),容量瓶若干个,移液管若干支。

硫磺(升华硫,≥99.8%,Korea),购自天津丰亿化工贸易有限公司;无水乙醇,甲醛,亚硫酸氢钠,醋酸,碘化钾,碘酸钾,硫代硫酸钠,磷酸二氢钠,磷酸氢二钠,氯仿,甲醇等,氯仿为色谱纯,其余均为分析纯,华北地区特种化学试剂开发中心(天津)提供。

供试样品为生物法处理含硫化物废水工艺的出水。

1.2 方法原理

水体中的单质硫(S^0)微粒和过量的亚硫酸氢根(HSO_3^-)反应完全转化为硫代硫酸根($S_2O_3^{2-}$),然后用甲醛去除剩余的亚硫酸氢根。酸性条件下,生成的硫代硫酸根再与过量的碘(I_2)反应,最后利用 721 分光光度计测定剩余碘的吸光度,间接测定出单质硫的含量。由于单质碘(I_2)易挥发,试验中利用碘酸钾(KIO_3)和碘化钾(KI)即时生成单质碘。方法涉及化学反应如下:



1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线制作

1.3.1.1 溶液配制

a.pH7.6 磷酸盐缓冲溶液; b.0.01 mol·L⁻¹ 亚硫酸氢钠(NaHSO₃)溶液; c.10.00 mg·L⁻¹ 单质硫乙醇-氯仿溶液(称取 100.20 mg 单质硫粉末,用氯仿溶解,转入 200 mL 容量瓶,再用氯仿定容至刻度,即得到 500.00 mg·L⁻¹ 的单质硫氯仿溶液,试验时用无水乙醇稀释 50 倍,单质硫浓度为 10.00 mg·L⁻¹); d.0.5 mol·L⁻¹ 甲醛(HCHO)溶液; e.15 mol·L⁻¹ 醋酸(HAc)溶液; f.KIO₃-KI 混合标准溶液,其中碘酸钾浓度 1.67×10⁻⁴ mol·L⁻¹,碘化钾浓度 0.6 mol·L⁻¹,混合液含 0.5 g·L⁻¹ 碳酸钠(Na₂CO₃)。

1.3.1.2 操作步骤

取 6 个 50 mL 容量瓶,编号为 1#~6#,取 1# 作为空白。在各容量瓶中以表 1 中第 1 行自左向右为序加入相应体积的指定溶液,最后用纯水定容。表 1 中间隔时间为添加前后 2 种溶液的间隔时间。

上述操作之后,以纯水为参比,用 721 分光光度

表 1 试剂添加流程

Table 1 Flow of adding reagents

	a	b	c	间隔时间	d	间隔时间	e	f
	/mL	/mL	/mL	/min	/mL	/min	/mL	/mL
1 #	5	1	0	5	3	2	2	2.5
2 #	5	1	1.5	5	3	2	2	2.5
3 #	5	1	3.0	5	3	2	2	2.5
4 #	5	1	4.5	5	3	2	2	2.5
5 #	5	1	6.0	5	3	2	2	2.5
6 #	5	1	7.5	5	3	2	2	2.5

计在 350 nm 波长下测定容量瓶中剩余碘(I_2)的吸光度,然后利用 Excel 绘出标准曲线:

$$y = -0.3096x + 0.4954, \text{ 相关系数 } r = 0.9999$$

1.3.2 水体中单质硫测定

取水样 100 mL,用氯仿 100、70、40 mL 分 3 次萃取,萃取液脱水,在旋转蒸发浓缩器上(水温 50℃)浓缩至近干,然后用无水乙醇少量多次转入 10 mL 刻度试管中,吸取 1 mL 无水乙醇稀释 10 倍,即为待测溶液。

取待测溶液 x mL (x 值视浓度而定),按 1.3.1.2 操作步骤进行测定。

2 结果与讨论

2.1 碘溶液(I_2)最大吸收波长的确定

取待测溶液稀释后用 1 cm 石英比色皿在紫外-可见光分光光度计(Probe UV-visible spectrophotometer, Cary 50, Varian)上选取 300~850 nm 波段进行扫描,根据扫描图谱确定 350 nm 为最大吸收波长。相关

文献[15]提供的 I_3^- 最大吸收波长也是 350 nm。

2.2 关键化学反应进行完全程度检验

2.2.1 单质硫向硫代硫酸钠的转化反应

在本试验中单质硫向硫代硫酸钠的转化反应是一个非常关键的反应,该反应进行完全与否直接影响测定结果。因此,需检验该反应完全程度。

检验方法参照标准曲线的制作。首先配制 $10.00 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫代硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 溶液,记为溶液 T。操作同标准曲线制作步骤,溶液 T 代替溶液 c_0 。利用测定结果得到直线:

$$y = -0.3089x + 0.4947$$

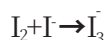
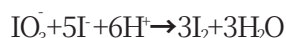
将它与标准曲线

$$y = -0.3096x + 0.4954$$

置于同一坐标系中可以看出,两条曲线几乎重合,且相关性都非常好。假设某一样品测得的吸光度为 0.356,分别以 2 条曲线作为工作曲线,计算出的样品浓度分别为 0.449 和 $0.450 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,相差仅 $0.001 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ (远小于本方法检测限 $0.03 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)。说明试验中单质硫向硫代硫酸根的转化反应已进行完全。

2.2.2 单质碘的生成反应

单质碘的生成反应主要受酸用量和碘化钾用量的影响(碘酸钾具有氧化性,不能过量,以免其与硫代硫酸钠反应),酸量和碘化钾用量不足均不能使该反应进行完全。最关键的是碘化钾的用量。溶液中单质碘是以 I_3^- 形态存在的,反应如下:



这样碘不易升华。因此,考虑碘化钾用量时应该加上与生成的碘(I_2)反应进一步生成 I_3^- 所需的碘化钾量,即为保证该反应进行完全而且碘不因升华而损失,碘化钾用量理论上是碘酸钾用量的 8 倍。

首先确定碘酸钾浓度为 $1.67 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,则碘化钾浓度理论上为 $1.34 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,然后在保证碘酸钾浓度不变以及醋酸过量的条件下,改变碘化钾的浓度,然后用 721 分光光度计测定各碘化钾浓度下溶液的吸光度。图 1 为不同碘化钾浓度条件下溶液吸光度的变化曲线,说明要使单质碘的生成反应进行完全,除醋酸要过量外,碘化钾的用量更要远远过量。试验中采用 $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的碘化钾溶液。

2.3 溶液酸碱度^[16]

单质硫和亚硫酸氢根反应受酸碱度影响较大。当 pH 为 3.2~5.0 时,需 30 min 反应完全;当 pH 为 6.0

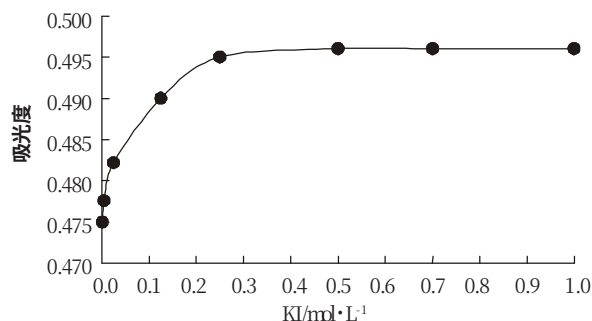


图1 不同 KI 浓度条件下溶液吸光度变化曲线

Figure 1 Effect of KI on ABS of iodine solution

时,反应 5min 就能进行完全;而当 pH 为 6.5~12.6 时,该反应 5min 中内都能反应完全。本试验采用 pH7.6 的磷酸盐缓冲溶液。

2.4 共存离子的影响

分别试验了 $10 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ K^+ 、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 离子对 $0.1000 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 单质硫测定的影响。结果表明 K^+ 、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 Cu^{2+} 等离子对测定产生正误差,但误差率很小,均小于 0.80%; Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 离子产生负误差, Ca^{2+} 离子误差率 1.52%, Mg^{2+} 离子误差率 2.37%。

2.5 其他影响因子

不同浓度 NaHSO_3 、 HCHO 对反应时间影响很小,但不影响结果。改变 NaHSO_3 浓度应该保持反应体系 pH7.6。涉及 NaHSO_3 、 HCHO 的反应均可在室温下 5 min 和 2 min 内完成,故选择室温。试验中醋酸必须过量,其一保证单质碘生成反应进行完全,其二保证溶液的酸性环境,避免剩余单质碘氧化溶液中的甲醛。另外,加醋酸后应迅速加入 KIO_3 -KI 混合标准溶液,以免硫代硫酸钠在酸性条件下分解(强酸性条件下硫代硫酸钠分解^[13]),影响测定结果。

2.6 方法检出限

本文采用使溶液吸光度下降 0.010 的单质硫浓度作为方法的检出限^[17]。

测定该方法检出限:按照 1.3.1.2 制作标准曲线的步骤,测定单质硫浓度系列为 0.000、0.005、0.010、0.015、0.020、0.025、0.030、0.035、0.040、0.045 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$,每个浓度梯度做 10 个平行测定。根据测定结果确定方法的检出限。测定结果如表 2,表 2 测定结果显示单质硫浓度为 $0.030 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,溶液吸光度下降 0.010,因此确定方法检出限为 $3.0 \times 10^{-2} \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.7 方法回收率

采用本方法对同一样品(同一容器中单质硫浓度相同的水样)和添加单质硫后样品进行测定。取水样

10份,分为5组,每2份为一组,每组中1份直接测定,另外1份添加0.1 ng的单质硫。测定结果及回收

率见表3。测试结果显示单质硫回收率介于97.8%~100.2%之间。

表2 方法检出限

Table 2 The minimum detection limits of the method

S 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.000	0.005	0.01	0.015	0.02	0.025	0.03	0.035	0.04	0.045
吸光度	0.494	0.493	0.493	0.491	0.489	0.488	0.485	0.483	0.482	0.481
	0.495	0.494	0.491	0.489	0.487	0.486	0.484	0.482	0.483	0.479
	0.496	0.493	0.493	0.492	0.489	0.486	0.487	0.483	0.482	0.480
	0.495	0.493	0.492	0.490	0.490	0.488	0.484	0.482	0.481	0.480
	0.495	0.494	0.492	0.491	0.489	0.487	0.486	0.483	0.482	0.481
	0.496	0.492	0.493	0.49	0.488	0.488	0.485	0.484	0.481	0.480
	0.497	0.494	0.491	0.489	0.489	0.487	0.485	0.483	0.482	0.479
	0.494	0.493	0.490	0.492	0.491	0.487	0.484	0.483	0.483	0.480
	0.494	0.494	0.493	0.491	0.489	0.487	0.486	0.484	0.482	0.480
	0.495	0.495	0.492	0.492	0.491	0.486	0.485	0.483	0.482	0.481
平均吸光度	0.495	0.493	0.492	0.491	0.489	0.487	0.485	0.483	0.482	0.480

表3 方法回收率

Table 3 The recovery rates of the method

样品分组	样品量/mL	添加硫/mg	测得值/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	回收率/%
1	100	0	13.342	—
	100	0.1	14.329	98.7
2	100	0	13.349	—
	100	0.1	14.351	100.2
3	100	0	13.352	—
	100	0.1	14.337	98.5
4	100	0	13.343	—
	100	0.1	14.324	98.1
5	100	0	13.338	—
	100	0.1	14.316	97.8

2.8 方法检验

参考 T.J. Hurse 等提供的方法,用高压液相色谱法^[12]分析同一样品。

仪器 Lambda- Max Model 481 高压液相色谱仪(带有 UV 检测器);Waters740 数据积分仪;Waters Model 510 进样泵;柱子采用 C_{18} 柱,柱长 250 mm,内径 4.6 mm,填充物粒径 5 μm 。

液相色谱分析条件:波长 265 nm;流动相,甲醇:水=3:7,流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 常温。

波长的确定:关于测定波长,T.J. Hurse 等采用 263 nm 或 297 nm,试验利用紫外-可见分光光度计(Cary 50 Probe UV-visible spectrophotometer, Varian)对标准溶液(即硫的甲醇-氯仿溶液,氯仿微量)选取 200~850 nm 波段进行扫描,根据谱线确定溶液最大吸收波长为 265 nm。

试验操作步骤:氯仿萃取单质硫,将溶液浓缩至近干,用甲醇少量多次转入 10 mL 刻度试管中,最后

用甲醇定容,摇匀。该溶液稀释 10 倍待测。

图 2、图 3 为标准样品和出水样品液相色谱分析谱图。

表 4 列出了对相同样品进行测定得出的 10 组试验结果。T.J. Hurse 等提供的液相色谱法测得的平均浓度值为 $13.916 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,本文方法测得的平均浓度为 $13.904 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,相差 $0.012 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,误差率仅为 0.08%。 t 检验结果 $t(0.05)=0.4055$,其值小于 t (双尾临界) 2.2622,表明 2 组数据差异不显著。

3 结论

本文提供的分光光度法测定生物法处理含硫废水工艺出水中的单质硫含量在理论上和实际操作中都是完全可行的。

该方法简便易行,所用仪器简单,不需大型仪器,常规实验室条件就能满足需要,方法灵敏度高,检测限为 $0.03 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 样品加标回收率较高,介于 97.8%~100.2%之间。



图2 标准样品色谱图

Figure 2 HPLC graph of the standard sample



图 3 出水样品色谱图

Figure 3 HPLC graph of the tested sample

表 4 液相色谱法和分光光度法分析结果比较 (mg·L⁻¹)

Table 4 Comparisons of the results determined by spectrophotometry method and LC method

	液相色谱法	分光光度法
10 次测定结果	13.816	13.823
	13.763	13.752
	14.059	14.072
	14.064	14.073
	13.672	13.667
	13.695	13.767
	14.032	13.767
	13.783	13.767
	14.112	14.175
	14.164	14.177
平均测定结果	13.916	13.904

利用本文提供的方法可以测算生物法处理含硫废水及回收单质硫工艺中单质硫的回收效率。

参考文献：

[1] 张克强. 含硫化物(H₂S,S²⁻,HS⁻)废水电凝聚与生物处理的技术研究[D]. 天津 天津大学(博士学位论文),2005.

[2] Blasius E, et al. Photometric determination of sulfite with trinitrobenzoic acid Fresenius Z[J]. Anal Chem 1973, (4): 269.

[3] Beszterda A. Determination of microgram amounts of sulfur in organic compounds by chemichromatography [J]. Rocs Akad Roin Poznanju, 1974, 73: 3.

[4] Alan P, et al. The quantitative analysis of free elemental sulfur by thin-layer chromatographic spectrodensitometry[J]. J Chromatog, 1976, 14: 572.

[5] Davies J R, et al. Quantitative determination of free elemental sulfur in rubber vulcanizates by thin- layer chromatography [J]. J Chromatog, 1968, 35: 513.

[6] Hamilton D J. Thin- layer Chromatography of elemental sulfur[J]. J Agr AnimSci, 1973, 30: 109.

[7] Dziunikowski B, et al. Possibilities of determining sulfur using X- ray fluorescence [J]. RadiochemRadional lett, 1974, 16(2): 73.

[8] 王桂芝. 分光光度法测定矿石和土壤中单质硫[J]. 冶金分析,1998, 18(3) 52- 53.

[9] Hausen L D, et al. Determination of sulfur (IV) and sulfur in aerosols by thermometric methods[J]. Chem, 1976, 48(4): 634.

[10] 国家药典委员会. 中国药典(第一部) [M]. 北京 :人民卫生出版社, 1990.301.

[11] 李 旭,吕归宝. 薄层扫描法测定中药复方制剂中单质硫的含量[J].中药新药与临床药理,1994, 5(2): 35- 38.

[12] Hurse T J, Abeydeera W P P. Quantification of sulfur and sulfur- containing compounds in wastewaters by means of a combination of liquid chromatographic methods [J]. Journal of Chromatography A, 2002, 942: 201- 210.

[13] 北京农业大学. 分析化学[M].北京 :中国农业出版社,1992.131- 133.

[14] 王积涛,等. 有机化学[M].天津 南开大学出版社,1993.168.

[15] 陈志超. 仪器分析实验[M]. 北京 :化学工业出版社,1991.111.

[16] 谢惠波. 有机分析实验[M]. 北京 :化学工业出版社,1992.85.

[17] 国家环保总局. 水和废水监测分析方法(第四版) [M]. 北京 :中国环境科学出版社,2002.8- 29.