

研究简报

## 荧光猝灭法测定痕量亚硝酸根

苑宝玲\* 林清赞

(厦门大学化学系, 厦门 361005)

**摘 要** 研究了用荧光猝灭法测定了亚硝酸根。本方法是基于亚硝酸根与碘化钾反应生成了单质碘, 碘可以使 2', 7'-二氯荧光素(DCF)发生荧光猝灭, 从而间接测定亚硝酸根。亚硝酸根浓度在 10~120  $\mu\text{g/L}$  范围内, 荧光强度差值与亚硝酸根浓度呈线性关系, 检测限为 5.6  $\mu\text{g/L}$ 。本法简便、灵敏度较高, 已用于合成样和分析纯试剂中亚硝酸根的测定。

**关键词** 荧光猝灭法, 单质碘, 2', 7'-二氯荧光素, 亚硝酸根。

### 1 引 言

亚硝酸盐是环保、食品、纺织及电镀等工业中的分析项目之一, 是对人体有害的一种物质, 同时也是水污染的重要指标之一, 故对人类赖以生存的环境, 以及食物链中痕量亚硝酸盐的测定, 便成为特别引人关注的课题。由于荧光光度法灵敏度高, 近年来用荧光光度法测定亚硝酸根的研究增多, 已有的荧光分析法中, 2, 6-二氨基吡啶法<sup>[1]</sup>需要溶剂萃取; 雷琐酚法<sup>[2]</sup>需沸水浴加热 1 h 以上; 5-氨基荧光素法<sup>[3]</sup>的灵敏度很大程度上取决于所用试剂的来源和批号。本文建立了用 2', 7'-二氯荧光素(DCF)作为荧光试剂测定亚硝酸根的新方法。亚硝酸根与碘化钾反应生成单质碘, 单质碘与 DCF 反应生成无荧光物质——碘代荧光素, 从而引起体系荧光强度猝灭。本方法简便、快速、灵敏度较高、选择性和再现性好, 已用于测定人工合成样和分析纯试剂中亚硝酸根的含量, 结果令人满意。

### 2 主要仪器和试剂

Hitachi 650-10S 型荧光分光光度计(日本日立公司); 960 型荧光分光光度计(上海第三分析仪器厂); 岛津 Shimadzu UV-240 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司); pHs-301 型 pH 计(厦门分析仪器厂)。

**亚硝酸根标准溶液:** 试样在 100℃干燥 2 h。准确称取 0.0754 g 亚硝酸钠于小烧杯中, 加少量水溶解后, 转入 500 mL 容量瓶, 用亚沸水定容, 此溶液亚硝酸根浓度为 100 mg/L, 再取适量稀释至浓度 1 mg/L 作为工作液; **DCF 溶液:** 准确称取 0.0160 g DCF(上海试剂厂), 加少量 1 mol/L 的 NaOH 溶液使之溶解, 转入 100 mL 棕色容量瓶, 用亚沸水定容, 溶液 DCF 浓度为  $4 \times 10^{-5}$  mol/L, 再取适量稀释至所需浓度作为工作液; **碘化钾溶液:** 称取 0.1 g 碘化钾, 用 100 mL 水溶解后, 转入棕色试剂瓶, 此溶液碘化钾浓度为 1 g/L; **Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲溶液:** 将浓度为 0.3 mol/L 的 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 和 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液按照不同的体积比混合, 配制成一系列不同 pH 的缓冲溶

1999-07-28 收稿; 1999-12-14 接受。

液,并在酸度计上测得其准确 pH 值。所用药品均为 A.R.级,实验用水均为亚沸蒸馏水。

### 3 实验方法

在 25 mL 容量瓶中加入一定量的亚硝酸根标准溶液,0.80 mL 1 mol/L 硫酸溶液,0.5 mL 1 g/L 碘化钾溶液,稍放置,加入 1.50 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液,2.00 mL 磷酸氢二钠-磷酸二氢钾缓冲液(pH=7.0),1.50 mL  $2 \times 10^{-6}$  mol/L DCF 溶液,加水稀释至刻度,摇匀,在激发波长 510 nm,发射波长 528 nm 的条件下测量体系的荧光强度。

## 4 结果与讨论

### 4.1 光谱特性

在 Shimadzu UV-240 上绘制体系的吸收光谱,如图 1 所示。由谱图推断可能是因为生成了碘代荧光素,致使光谱最大吸收发生了红移。用 Hitachi 650-10S 型荧光分光光度计绘制体系的激发光谱和发射光谱,如图 2 所示。从谱图可看出,体系的最大荧光激发和发射波长分别为 510 nm 和 528 nm,而且 DCF-I<sup>-</sup> 体系随着亚硝酸根量的加入荧光强度减弱。

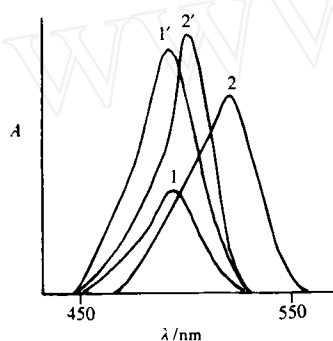


图1 吸收光谱

Fig.1 Absorption spectra

1. 2',7'-dichlorofluorescein(DCF); 1'. DCF-I<sup>-</sup>; 2. 四磺荧光素(erythrosine); 2'. DCF-I<sup>-</sup>-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>。

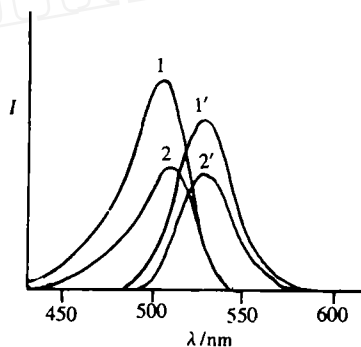


图2 荧光激发和发射光谱

Fig.2 Excitation and emission spectra

1,1'. DCF-I<sup>-</sup>; 2,2'. DCF-I<sup>-</sup>-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>。

### 4.2 实验条件的选择

依实验可得,DCF的最佳浓度在  $0.8 \sim 1.6 \times 10^{-7}$  mol/L 范围内,本实验选择 DCF 浓度为  $1.2 \times 10^{-7}$  mol/L;碘化钾的最佳用量由实验可知,反应体系荧光强度差值随着碘化钾量的增加而增大,当浓度在 8 ~ 30 mg/L 范围内时达到最大且基本稳定,本实验选择碘化钾浓度为 20 mg/L;酸度的选择,考察不同酸度磷酸氢二钠-磷酸二氢钾的缓冲溶液对体系荧光强度的影响,发现当 pH=6.5~7.5 范围内是体系荧光强度差值达到最大且稳定,本实验选择 pH 为 7.0,适宜用量为 2.00 mL 的磷酸氢二钠-磷酸二氢钾缓冲溶液;本体系的反应在室温下迅速完成,升高或降低温度对荧光强度差值无太大影响,且荧光强度差值在 8 h 内基本恒定。见表 1。

### 4.3 工作曲线与检测限的测定

实验表明,亚硝酸根含量在 10 ~ 120 μg/L 范围内,荧光强度差值与亚硝酸根含量呈正比。线性回归方程  $\Delta F = 6.15C + 4.03$  (C 为 25 mL 中 μg 数),相关系数  $r = 0.9996$ 。对 6 份试剂空白进行平行测定,根据  $3S_0/K$  ( $S_0$  为空白测定值的标准偏差,  $K$  为工作曲线的斜率) 进行计算,

得到检测限为 5.6  $\mu\text{g/L}$ 。

#### 4.4 共存离子的影响

对于测定 1  $\mu\text{g}$  的亚硝酸根,在反应体系中加入不同量的干扰离子,当荧光测定值误差不大于  $\pm 5\%$  时,各种共存离子的允许量列于表 2 中。

表 1 实验条件的选择

Table 1 The optimum conditions for fluorimetric determination

影响因素 Effecting factors	最佳条件 Optimum conditions
硫酸浓度 Concentration of $\text{H}_2\text{SO}_4$	$3.2 \times 10^{-2}$ mol/L
DCF 浓度 Concentration of DCF	$1.2 \times 10^{-7}$ mol/L
碘化钾浓度 Concentration of KI	20 mg/L
酸度 Acidity	pH = 7.0 (2.00 mL $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
反应温度 Reaction temperature	室温 Room temperature
放置时间 Setting time	8 h

表 2 干扰离子的允许含量(1  $\mu\text{g}$   $\text{NO}_2^-$ )

Table 2 Tolerance of foreign ions in the determination of 1  $\mu\text{g}$  nitrite

干扰离子 Foreign ions	容许含量(质量比) Ratio to nitrite(W/W)
$\text{Na}^+$ $\text{K}^+$ $\text{NH}_4^+$ $\text{NO}_3^-$ $\text{SO}_4^{2-}$ $\text{Cl}^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{HCO}_3^-$	1000
$\text{Ca}^{2+}$ $\text{Al}^{3+}$ $\text{Cu}^{2+}$ $\text{Co}^{2+}$ W(V)	500
$\text{SCN}^-$	250
$\text{Mg}^{2+}$	200
$\text{Pb}^{2+}$	100
$\text{Fe}^{3+}$	50
$\text{Zn}^{2+}$ $\text{Ni}^{2+}$	25
$\text{Hg}^{2+}$ $\text{Cr}^{3+}$ $\text{Ba}^{2+}$ $\text{Cd}^{2+}$	20
$\text{Mn}^{2+}$	10
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$	5

## 5 样品分析

分别吸取合成样和分析纯试样适量加入 25 mL 容量瓶,按照上述优化好的实验条件进行测定,同时对所分析的样品中加入不同量的亚硝酸根进行回收实验( $n = 6$ )如表 3 和表 4 所示,回收率均在 95% 至 105% 之间,结果令人满意。

表 3 合成样中  $\text{NO}_2^-$  的测定

Table 3 Determination results of nitrite in synthetic mixtures

合成样 Synthetic mixtures	测得平均值 Nitrite found ( $\mu\text{g}$ , $n = 6$ )	RSD (%)	加入量 Added nitrite ( $\mu\text{g}$ )	回收率平均值 Recovery (%, $n = 6$ )
$\text{NaCl}(2.0\text{g}) + \text{KCl}(0.6\text{g}) + \text{MgCl}_2(0.3\text{g}) + \text{NaNO}_2(150\mu\text{g})$	1.99	1.82	1.00	98.6
$\text{NaCl}(6.0\text{g}) + \text{MgCl}_2(1.5\text{g}) + \text{Ca}(\text{NO}_3)_2(0.5\text{g}) + \text{Na}_2\text{SO}_4(1.0\text{g}) + \text{KI}(0.07\text{g}) + \text{Fe}(\text{NO}_3)_3(700\mu\text{g}) + \text{NaNO}_2(150\mu\text{g})$	2.09	1.14	1.00	104.5

表 4 分析纯试样中  $\text{NO}_2^-$  的测定

Table 4 Determination results of nitrite in analytical reagents

试剂样 Samples	测得平均值 Nitrite found ( $\mu\text{g}$ , $n = 6$ )	RSD (%)	加入量 Added nitrite ( $\mu\text{g}$ )	回收率平均值 Recovery (%, $n = 6$ )
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	0.49	2.01	1.00	99.1
$\text{NaNO}_3$	0.52	1.75	1.00	103.9

## References

- 1 Dombrowski L J, Pratt E J. *Anal. Chem.*, **1972**, 44:2268
- 2 Nakamura M. *Anal. Lett.*, **1980**, 13:771
- 3 Axelrod H D, Engel N A. *Anal. Chem.*, **1975**, 47:922

## Fluorescence Quenching Method for the Determination of Trace Nitrite

Yuan Baoling\*, Lin Qingzan

(Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005)

**Abstract** A simple and sensitive fluorescence quenching method for the determination of nitrite has been investigated. The method is based on the reaction of nitrite with potassium iodide giving iodine ( $I_2$ ), which is estimated by the fluorescence quenching method using 2',7'-dichlorofluorescein. The calibration graph is linear over the range 10 ~ 120  $\mu\text{g}$  per liter nitrite. The detection limit is 5.6  $\mu\text{g}$  per liter nitrite. The method has been applied successfully to the determination of nitrite in synthetic mixtures and analytical reagents.

**Keywords** Fluorescence quenching method, iodine, 2',7'-dichlorofluorescein, nitrite

(Received 28 July 1999; accepted 14 December 1999)

欢迎参展 欢迎参观 欢迎合作

### 第五届中国国际质量控制技术与测试仪器展览会 将于2000年11月在上海举行

中国无损检测、理化检验、材料测试行业每年一度的盛会——“第五届中国国际质量控制技术与测试仪器展览会”将于2000年11月20~23日在上海国际展览中心举行。该展览会是当今无损检测、理化检验和材料测试仪器领域最权威、最有影响的展览会,是由国家科学技术部批准,国家机械工业局支持的定期国际展览会,由上海材料研究所主办中国机械工程学会无损检测分会、理化检验分会、材料分会和机械工业材料性能测试技术中心协办。

展品范围:无损检测设备、无损检测器件、物理测试仪器、物理测试用附件、化学分析仪器、化学分析用附件、材料试验设备、其它测试设备、生产过程质量监控设备等。

欢迎访问: [www.chsndt.com](http://www.chsndt.com)    [www.ndinfo.net](http://www.ndinfo.net)

上海华亿展览广告有限公司上海邯郸路99号    邮编 200437

联系人:王为纲 林春芳    电话:021-65445687/65446443

传 真:021-65166355    E-mail: [mppnc@81890.net](mailto:mppnc@81890.net)