

文章编号:0253-9950(2007)01-0008-07

亚硝酸根荧光分析方法的研究及应用

钱红娟, 吴继宗, 张丽华, 刘峻岭

中国原子能科学研究院 放射化学研究所, 北京 102413

摘要:建立了用于后处理工艺料液中亚硝酸根的荧光分析方法。方法以 5-氨基荧光素为指示剂, 在盐酸溶液中, 亚硝酸根与 5-氨基荧光素发生重氮化反应, 其产物在碱性条件下有很强的荧光, 据此测定亚硝酸根的含量。结果表明, 所测样品的相对标准偏差和回收率分别为: 后处理台架工艺料液, 4%, 96%~106%; 高放废液, 5%, 96%~103%。方法可应用于后处理工艺料液中亚硝酸根的测定和有机废物中硝基化合物的测定。

关键词: 亚硝酸根; 5-氨基荧光素; 荧光分析法

中图分类号: O657.39 文献标识码: A

Fluorimetry of Nitrite and Its Applications

QIAN Hong-juan, WU Ji-zong, ZHANG Li-hua, LIU Jun-ling

China Institute of Atomic Energy, P. O. Box 275(88), Beijing 102413, China

Abstract: A new fluorimetric method for determination of nitrite was studied, based on the reaction of 5-aminofluorescein in acidic medium to form a new compound which was no fluorescence and reduced to highly fluorescence in alkaline medium. Effects of metal ions impurity were discussed. The acidity and measuring time were given. The precision of this method are 4% and 5% respectively. The recoveries are between 96% and 106% in nuclear fuel reprocessing solution and between 96% and 103% in high-level radioactive liquid waste. The method is applied to the determination of NO_2^- in nuclear fuel reprocessing solution and high-level radioactive liquid waste and nitrocompound in organic liquid waste.

Key words: nitrite; 5-aminofluorescein; fluorimetry

后处理工艺是从乏燃料中提取铀和钚的化工过程。整个后处理工艺的水相是硝酸溶液。硝酸的光解和辐解以及元件的溶解会产生亚硝酸根。亚硝酸根对后处理工艺控制的影响主要体现在 3 个方面: (1) 影响铀、钚及裂片元素的价态分布, 从而影响钚的收率和铀的走向; (2) 亚硝酸根进入铀钚分离循环会破坏还原剂 (尤其是 Fe^{2+} , $\text{U}(\text{IV})$ 作还原剂时); (3) 亚硝酸根的存在会加速烷烃溶

剂的降解, 导致有机相萃取与反萃性能下降。因此, 亚硝酸根的含量分析在后处理工艺控制分析中占有重要地位, 建立一个适合于复杂体系的亚硝酸根分析方法具有重要意义。

现有亚硝酸根的分析方法主要有电化学分析法^[1]、色谱法^[2]、分光光度法^[3-4]、分子荧光法^[5-6]等。电化学分析法的准确度、灵敏度都高, 重现性和稳定性也好, 但此方法的电极表面处理比较复

杂,且环的氧化还原电位与 NO_2^- 接近,对分析结果产生严重影响;色谱法分离效果好,分析速度快,应用范围广,但大量硝酸根会干扰亚硝酸根的色谱峰;分光光度法选择性好,操作简便,测定快速,但灵敏度较低,用于高放样品测量时,样品只能小倍数稀释,不利于安全防护;荧光法选择性好,灵敏度高,用于测定放射性样品时,样品可以高倍稀释,大大降低了样品放射性,有利于操作人员的安全防护,但是,大多数荧光分析法操作步骤繁琐。核燃料后处理的分析检测对象大都具有高比活度及高毒性的特点,从而使其操作步骤更加复杂化。因此,在选择分析方法时,除了准确度和灵敏度外,还必须考虑方法的复杂性、安全可靠等因素。5-氨基荧光素作指示剂分析亚硝酸根^[7]有以下几个优点:(1)选择性好,大量存在的金属离子和硝酸根不影响亚硝酸根的分析,无需分离即可直接测定;(2)灵敏度高;(3)反应在室温下即能

进行,操作步骤相对简单;(4)生成的荧光物质很稳定(24 h)。本工作针对放射性体系中亚硝酸根的分析,拟建立 5-氨基荧光素为指示剂的荧光分析法,并拟将其应用于后处理台架工艺溶液和高放废液中亚硝酸根的分析,并在其基础上建立测定有机废液中硝基化合物的荧光分析方法,以扩展荧光分析法的应用范围。

1 方法原理

以 5-氨基荧光素为指示剂的荧光分析法分析亚硝酸根分为酸反应和碱反应 2 个步骤,其中酸反应为整个反应过程的控制步骤。5-氨基荧光素及其重氮衍生物和偶氮衍生物具有不同的吸收结构,因而具有不同的化学性质,产生不同的荧光效率,在相同的激发和发射光谱下发射的荧光强度不同,通过测定溶液荧光强度的变化即可计算亚硝酸根的含量。反应原理示于图 1。

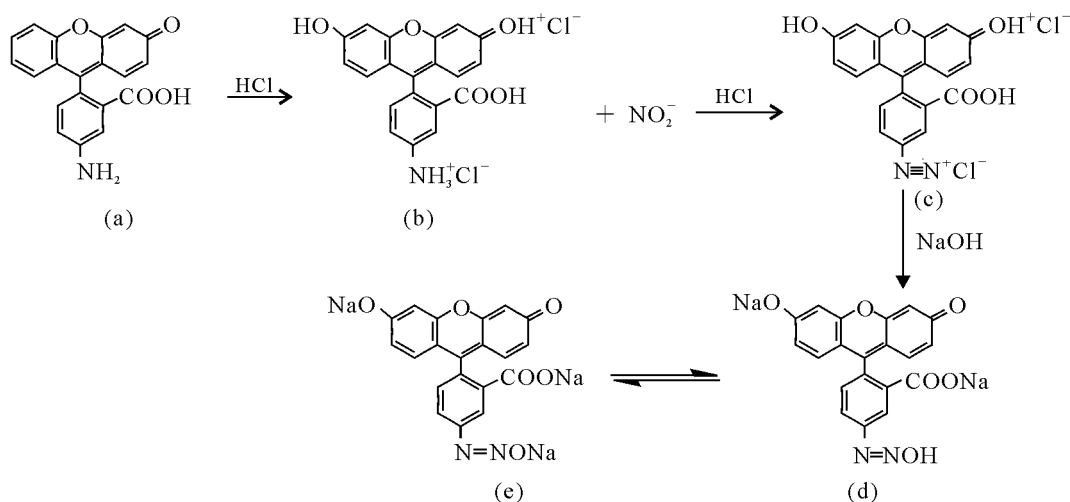


图 1 反应原理

Fig. 1 Proposed reaction for NO_2^- analysis procedure

a, b——5-氨基荧光素(5-aminofluorescein), c——重氮衍生物(Diazo-compound of 5-aminofluorescein),
d, e——偶氮衍生物(Azo-compound of 5-aminofluorescein)

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

HITACHI-850 型荧光分光光度计,日本日立公司。

NaNO_2 标准溶液, N 的质量浓度为 10 mg/L, 国家标准物质中心提供, 配制一系列不同浓度的标准溶液待用; 5-氨基荧光素, 分析纯, 日本东京株式会社产品, 配制成 1 $\mu\text{mol/L}$ 级溶

液; HCl , NaOH 均为优级纯, 北京化学试剂厂。

2.2 实验方法

取 1.0 mL 一系列标准 NaNO_2 溶液于 10 mL 容量瓶中, 加入 1.0 mL 1 $\mu\text{mol/L}$ 5-氨基荧光素, 加入适量 HCl 调节溶液酸度为 1.2 mol/L, 反应 50 min 后, 加入适量 NaOH 溶液, 调节溶液碱度为 1.0 mol/L, 加水稀释至刻度。放置 5 min 后, 以 492 nm 为激发波长, 521 nm 为发射波长, 测定体系的荧光强度。

3 结果和讨论

3.1 光谱特性

5-氨基荧光素与 NO_2^- 生成的荧光产物的激发光谱和发射光谱示于图 2。由图 2 可见,最大的激发和发射波长分别为 492 和 521 nm。本方法选择在该波长下进行测试。

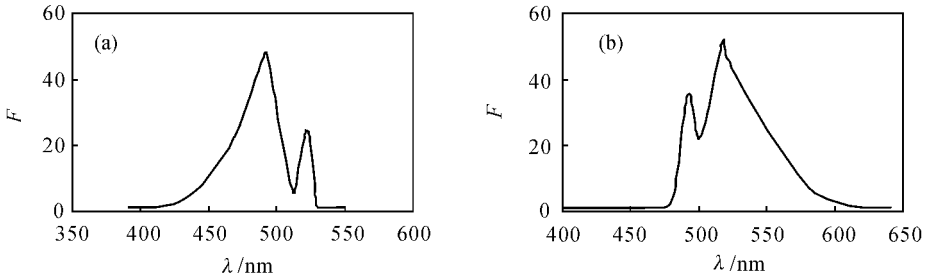


图 2 激发波长(a)与发射波长(b)

Fig. 2 Excitation(a) and emission(b) spectra

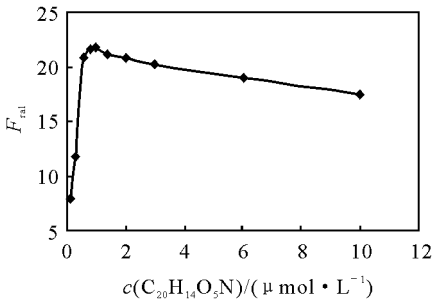


图 3 5-氨基荧光素浓度对荧光强度的影响

Fig. 3 Effect of 5-aminofluorescein concentration on the fluorescent intensity

图 3 结果表明,5-氨基荧光素的浓度在 $0.6 \sim 1.4 \mu\text{mol/L}$ 之间时,荧光强度达到最大且比较稳定,说明此时 5-氨基荧光素的浓度足够保证 NO_2^- 完全转化成荧光物质。为保证溶液不产生自吸收,5-氨基荧光素的适宜浓度为 $1.0 \mu\text{mol/L}$ 。

3.3 反应酸度的影响

3.3.1 HCl 浓度对荧光强度的影响 HCl 浓度的大小决定着第一步反应中 NO_2^- 能否完全转化成重氮衍生物,HCl 浓度低,第一步反应中 NO_2^- 没有完全转化成重氮衍生物;HCl 浓度高,增加第二步碱反应中 NaOH 的加入量。因此,本实验中 HCl 浓度既要保证使 NO_2^- 完全转化成重氮衍生物又不增加碱反应中 NaOH 加入量。HCl 浓度对荧光强度的影响示于图 4。

3.2 指示剂浓度的选择

5-氨基荧光素的浓度既要保证 NO_2^- 能完全转化成荧光物质又要保证生成的荧光物质浓度不会太大,否则一部分荧光会被自身吸收,使溶液的荧光强度降低。实验考察了 5-氨基荧光素浓度对荧光强度的影响(用量均为 1 mL),结果示于图 3。

图 4 结果表明,HCl 浓度的变化对荧光强度有较大的影响。在 HCl 浓度为 $1.0 \sim 1.4 \text{ mol/L}$ 范围内,荧光强度达到最大且比较稳定。实验选定 HCl 浓度为 1.2 mol/L 。

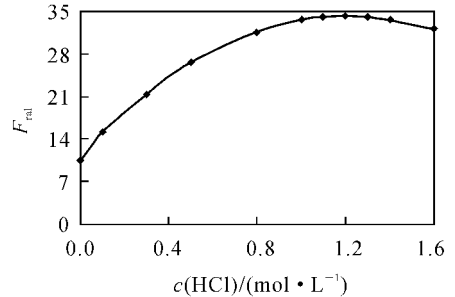


图 4 盐酸浓度对荧光强度的影响

Fig. 4 Effect of acidity on the fluorescent intensity

3.3.2 NaOH 浓度的影响 NaOH 浓度的大小决定着重氮衍生物能否完全转化成偶氮衍生物。NaOH 浓度低,只有一部分重氮衍生物转化成偶氮衍生物。本工作研究了 NaOH 浓度对荧光强度的影响,结果示于图 5。

由图 5 可以看出,当体系 NaOH 浓度大于 0.8 mol/L 时,荧光强度基本趋于稳定。为保证获得最强的荧光强度,本实验选择体系 NaOH 浓度为 1.0 mol/L 。

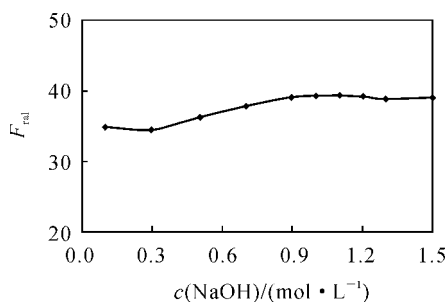


图 5 NaOH 浓度对荧光强度的影响

Fig. 5 Effect of NaOH concentration on the fluorescent intensity

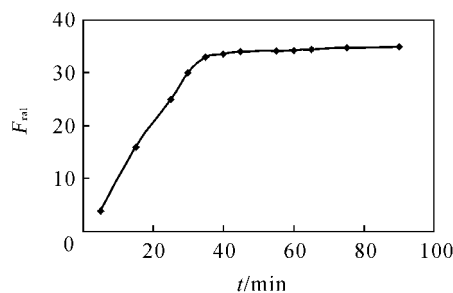


图 6 酸反应时间对荧光强度的影响

Fig. 6 Effect of acid reaction time on the fluorescent intensity

3.4 反应时间对荧光强度的影响

酸反应平衡时间影响 NO_2^- 转化为重氮衍生物的转化率。本工作确定了酸反应平衡时间并绘制了酸反应时间对荧光强度的影响,结果示于图 6。

图 6 结果表明,酸反应时间在 40 min 以内时,荧光强度急剧上升;超过 40 min 以后,荧光强度基本不随时间变化。为保证 NO_2^- 能完全生成重氮衍生物,本实验选择酸反应时间为 50 min。

重氮衍生物在碱性条件下能立即生成荧光物质,而且荧光强度在 24 h 内基本不变。本工作的测量操作在加入 NaOH 5 min 后进行。

3.5 共存离子的影响

在荧光分析中,共存离子的干扰是影响分析结果的重要因素。在后处理工艺和高放废液样品中,除 UO_2^{2+} 和 $\text{Pu}(\text{IV})$ 外,还有其他的金属离子,

如 $\text{Zr}(\text{IV})$, $\text{Mo}(\text{VI})$ 等以及工艺管道的腐蚀产物 Fe^{3+} 和 Cr^{3+} 。本实验考察了各种共存离子对本方法的干扰,其中标准亚硝酸钠的重加量为 $m_{\text{add}}=10 \text{ ng}$ 。干扰实验结果列入表 1。

从表 1 数据可以看出, UO_2^{2+} , NpO_2^+ , Th^{4+} 等 22 种离子中有 21 种不干扰测定;微量的 Fe^{3+} (80 倍)的干扰可以通过 EDTA 掩蔽。实验中没有对 NO_3^- 离子作干扰实验,但表 1 中所用共存离子的基体溶液大多为 HNO_3 ,从而认为大量存在的 NO_3^- 也不影响测定,说明 5-氨基荧光素测定 NO_2^- 的选择性很高。因此,在进行样品测量时,可无需分离直接进行测定。

3.6 工作曲线

取一系列 NaNO_2 标准溶液,在选定条件下绘制工作曲线,结果示于图 7。

表 1 杂质干扰情况

Table 1 Materials investigated for interference

离子 (Ions)	$m(\text{M}^{n+})_{\text{add}}/\mu\text{g}$	$m(\text{NaNO}_2)_{\text{mea}}/\text{ng}$	$\sigma/\%$	离子 (Ions)	$m(\text{M}^{n+})_{\text{add}}/\mu\text{g}$	$m(\text{NaNO}_2)_{\text{mea}}/\text{ng}$	$\sigma/\%$
$\text{UO}_2^{2+1)}$	35	4.99	0	Se^{6+}	100	10.21	+2.1
$\text{Np}(\text{V})^{1)}$	10	4.93	-0.01	Ni^{2+}	50	10.59	+5.9
Th^{4+}	100	10.13	1.3	As^{3+}	50	10.21	+2.1
Zr^{4+}	100	9.26	-7.4	Sb^{3+}	50	9.67	-3.3
Mo^{6+}	50	9.87	-1.3	Cd^{2+}	50	10.60	+6.0
Nb^{5+}	100	9.49	-5.1	Fe^{3+}	0.8	7.72	-22.8
Y^{3+}	50	9.12	-8.8	K^+	100	9.07	-9.3
Ru^{2+}	100	10.34	+3.4	Mg^{2+}	50	9.55	-4.5
Yb^{3+}	50	9.07	-9.3	Ag^+	15	9.62	-3.8
Eu^{3+}	100	9.89	-1.1	Cr^{3+}	50	10.31	+3.1
Sr^{2+}	100	9.94	-0.6	Sn^{2+}	50	10.69	+6.9

注(Note): 1) UO_2^{2+} 和 $\text{Np}(\text{V})$ 中标准亚硝酸钠的重加量为 5 ng (Mass of added standard sodium nitrite of UO_2^{2+} and $\text{Np}(\text{V})$ is 5 ng)

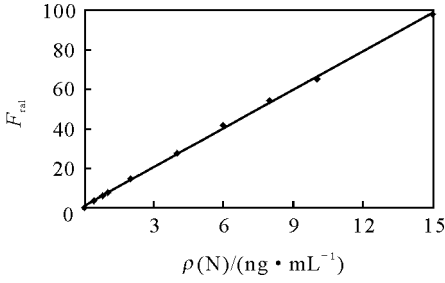


图 7 工作曲线

Fig. 7 Calibration curve for determination of NaNO_2

NaNO_2 质量浓度在 $0.3 \sim 15 \text{ ng/mL}$ (以 N 计) 范围内(实际样品浓度为 $3 \sim 150 \text{ ng/mL}$) 与荧光强度呈线性关系, 其线性回归方程为: $Y = 6.5161x + 1.0741$ (Y 为相对荧光强度, x 为标准 NaNO_2 的质量浓度), $r^2 = 0.999$ 。对 10 ng 的 NO_2^- 进行了 10 次平行测定, 相对标准偏差为 1.5% 。检出限为 42 ng/L 。

3.7 合成样品分析

配制了与后处理工艺溶液相似的合成样品溶液, 样品基体为 5.0 mol/L HNO_3 。合成样品稀释 1 000 倍为待测样品。合成样品的组成列入表 2。取 6 个稀释后的合成样品并分别进行重加回收实验, 测定结果列入表 3。表 3 结果表明, 6 次测量的 NO_2^- 含量的平均值为 6.08 ng , 相对标准偏差为 4.1% , 重加回收率为 $98\% \sim 106\%$ 。

表 2 合成样品成分

Table 2 Composition of synthetic sample

离子(Ions)	$\rho/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	离子(Ions)	$\rho/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$
UO_2^{2+}	0.05	Sr^{2+}	40
Pu^{4+}	0.50	Cd^{2+}	5.0
Nb	325	As^{3+}	1.0
Zr^{4+}	180	Se	2.5
Ru	110	Sn	4.5
Ba^{2+}	85	Ag^+	4.6
Mo^{6+}	165	Fe^{3+}	200
Re	525	Rb	20
Cs	120	Te	25
Ge	4.5		

表 3 合成样品中的分析结果

Table 3 Determination results of synthetic sample

No.	m_{mea}/ng	$m_{(\text{mea}+\text{add})}/\text{ng}$	$Y/\%$
1	6.19	11.1	100
2	6.24	11.4	106
3	5.74	11.0	98
4	5.82	11.1	100
5	6.37	11.2	102
6	6.11	11.3	104

注(Note): 标准亚硝酸钠的重加量为 5 ng (Mass of added standard sodium nitrite is 5 ng)

4 方法的应用

4.1 台架实验工艺溶液中亚硝酸根的分析

后处理台架实验溶液中主要成分的初始浓度为: $\rho(\text{U}(\text{VI})) = 225 \text{ g/L}$, $\rho(\text{Np}(\text{V})) = 0.1 \text{ g/L}$, $\rho(\text{Pu}(\text{IV})) = 2.2 \text{ g/L}$, $\rho(\text{Zr}(\text{IV})) = 0.9 \text{ g/L}$, $\rho(\text{Tc}) = 0.19 \text{ g/L}$, $\rho(\text{Mo}(\text{VI})) = 0.8 \text{ g/L}$, $\rho(\text{Ru}) = 0.51 \text{ g/L}$, $\rho(\text{Pd}) = 0.32 \text{ g/L}$ 。其中铀和钷的质量浓度很大, 放射性很强, 不能直接测定。稀释后, 其放射性和毒性得到降低, 测量操作可在丙级实验室进行。

取台架实验过程中 11 个控制点的样品溶液, 稀释后按本分析方法测定其 NO_2^- 的含量, 分析结果列入表 4。

表 4 台架实验中 NO_2^- 的分析结果

Table 4 Determination results of samples from pilot scale

过程 (Process)	t	$c(\text{HNO}_3)_t/$ ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	m_{mea}/ng	$s_r/\%$
溶解 (Dissolution)	20 min	6.54	50.2	0.4
	40 min	5.688	16.7	2.8
	1 h	4.56	22.3	1.9
	1.5 h	4.05	29.3	1.6
	2 h	3.792	22.7	1.4
	3 h	3.57	16.7	2.3
保温(Warm preservation)	4 h	3.56	8.70	0.9
	6 h	-	15.7	2.4
Pt 催化 (Pt catalysis)	8 h	3.63	4.61	1.5
	1 h	-	4.23	3.3
调酸 (Acidity adjustment)	调酸前 (Before acidity adjust- ment)	3.64	3.64	2.2
	1AF			

注(Note): $n=6$

为验证方法的准确性,对第二次台架实验的 8 个控制点的样品进行重加回收试验,结果列入表 5。

表 5 台架实验中 NO_2^- 的回收率
Table 5 Recovery of NO_2^- at pilot scale

样本(Sample)	m_{mea}/ng	$m_{(\text{mea}+\text{add})}/\text{ng}$	Y/%
1	3.51	8.71	104
2	8.22	13.1	98
3	5.77	10.8	102
4	4.93	9.92	100
5	6.12	10.9	96
6	4.73	9.82	102
7	5.41	10.7	106
8	3.59	8.31	96

注(Note): 标准亚硝酸钠的重加量为 5 ng(Mass of added standard sodium nitrite is 5 ng)

表 6 高放废液的分析结果

Table 6 Determination results of high-level radioactive liquid waste

样品 (Sample)	m_{mea}/ng	$s_r/\%$	Y/%	样品 (Sample)	m_{mea}/ng	$s_r/\%$	Y/%
1 [#] -1	17.7			2 [#] -1	17.5		
1 [#] -2	18.9	4.4		2 [#] -2	17.9	1.6	
1 [#] -3	19.2			2 [#] -3	17.4		
1 [#] -3'	24.0		96	2 [#] -1'	22.7		103

注(Note): 1[#]-3'和 2[#]-1'的标准亚硝酸钠的重加量为 5 ng(Mass of added standard sodium nitrite of 1[#]-3' and 2[#]-1' is 5 ng)

从表 6 数据看出,2 个样品的相对标准偏差分别为 4.4% 和 1.6%;回收率分别为 96% 和 103%。说明本方法的分析结果满足高放废液玻璃固化工艺对分析结果的要求。

4.3 有机废液中硝基化合物的分析

有机废液中的主要成分为脂族硝基化合物。在有机废液的处置中,硝基化合物的含量必须准确测定。如果其含量超过临界值,焚烧有机物会引起爆炸。因此,有机废液中硝基化合物的含量是决定有机废液处置方法的重要指标。

有机废液中的硝基化合物为各种烷烃类硝基化合物,其结构中— NO_2 化学行为相似,本工作用硝基乙烷来替代各种烷烃硝基化合物进行条件实验。现有的硝基化合物分析方法多为分光光度法。光度法的缺点是灵敏度低,样品不能稀释,测量时取样量大,工作人员受辐射剂量大。用本方

从表 4,5 数据看出,本方法的精密度优于 4%,样品的回收率在 96%~106%之间,说明本方法能满足科研生产的要求,适于推广。

4.2 高放废液样品分析

4.2.1 模拟样品的分析 模拟高放废液的酸度大约在 1 mol/L 左右,分析时需把样品稀释 10^3 倍以上。取 3 个平行的稀释 10^3 倍的模拟高放废液,按已定的分析程序分析,测出荧光强度,在工作曲线上求出相应的值。计算结果低于本法的检测限 42 ng/L。说明模拟高放废液在配制过程中没有引入背景值。

4.2.2 高放废液分析结果 高放废液 1[#] 和 2[#] 样品分别取 3 个平行样,稀释若干倍后进行测定,并分别对其中的一个样品进行重加回收实验。测定结果列入表 6。

法测定有机废液中的硝基化合物时,样品不能直接测定,必须进行预处理转化成 NO_2^- 才能分析。有机废液的预处理过程如下:

(1) 取适量稀释了若干倍的有机废液,加入 1.00 mL 4 mol/L NaOH,1.00 mL 6% H_2O_2 ,摇匀,水浴加热 30 min;

(2) 加入 1 mL 1 g/L NiCl_2 ,摇匀,水浴加热 30 min,冷却后待用。

用所建立的方法测定预处理过的有机废液中的亚硝酸根的含量并转化成硝基化合物的含量。

1[#],2[#] 为平行样,分别稀释后,取 0.1,0.2 mL 进行样品预处理,再取 3 个 1[#] 的平行样,加入适量硝基乙烷标准溶液,再按相同程序稀释,使溶液中硝基化合物浓度在检测范围内,进行重加回收实验,结果列入表 7。

表 7 有机废液中硝基化合物的分析结果

Table 7 Determination results of organic liquid waste

样品 (Sample)	V/mL	$\rho(\text{NO}_2^-)/$ (ng · mL ⁻¹)	$\rho(\text{NO}_2^-)_{(\text{mea}+\text{add})}/$ (ng · mL ⁻¹)	Y/%
1 [#]	0.1	7.19	10.6 ¹⁾	102
	0.2	13.6	20.6 ²⁾	105
	0.2	14.2	20.6 ²⁾	96
2 [#]	0.1	6.64		
	0.1	7.24		
	0.2	12.8		

注(Notes): 1)重加 3.33 ng 硝基乙烷 (Mass of added nitroethane is 3.33 ng);

2)重加 6.66 ng 硝基乙烷 (Mass of added nitroethane is 6.66 ng)

从表 7 结果看出,重加回收率为 96%~105%。1[#],2[#] 样品平行样的浓度差异较大,主要原因是有机废液粘度大,取样过程中容易吸附在取样器的塑料管壁上,从而引入误差。

5 结 论

(1)建立了以 5-氨基荧光素为指示剂的亚硝酸根荧光分析方法。方法的检测限为 42 ng/L;共存离子不干扰测定,抗干扰能力强;微量的 Fe³⁺ (80 倍)的干扰可以通过 EDTA 掩蔽;方法操作简单,无须分离即可直接测定后处理工艺溶液中的亚硝酸根。

(2)方法可应用于后处理台架工艺溶液,方法精密度优于 4%;回收率在 96%~106%。可应用

于高放废液,精密度优于 5%;回收率为 96%~103%。

(3)建立了荧光法测定脂族硝基化合物的分析方法并应用于有机废液中硝基化合物的测定。重加回收率为 96%~105%。

参考文献:

- [1] 赖晓绮,薛君,黄承玲.催化动力学电位法测定痕量亚硝酸根[J].分析科学学报,2002,18(4):294-296.
- [2] Tsikas D, Boger R H, Bode Boger S M, et al. Quantification of Nitrite and Nitrate in Human Urine and Plasma as Pentafluorobenzyl Derivatives by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Using Their ¹⁵N-Labelled Analogs[J]. J Chromatogr B, 1994, 661: 185-191.
- [3] 董存智,岳海燕.基于重氮化反应分光光度法测定微量亚硝酸根[J].分析化学,2001,29(1):119-191.
- [4] 董存智,宋武美.基于重氮化反应分光光度法测定微量亚硝酸根[J].分析实验室,2000,19(6):59-61.
- [5] 任慧娟,杨立平,符连社,等.酪氨酸作试剂荧光光度法测定亚硝酸根[J].分析实验室,2003,22(1):90-91.
- [6] 朱展才,许文伟,汪静.氧化还原荧光法测定痕量亚硝酸根[J].分析化学,2001,29(8):941-943.
- [7] Herman D A, Nancy A. Fluorometric Determination of Sub-Nanogram Levels of Nitrite Using 5-Aminofluorescein [J]. Eng Anal Chem, 1975, 47(6): 922-924.