

利用半导体激光管制作亚硝酸盐测定仪的可行性研究

吴洋 郝瑞霞[†] 姜源 杨诗琴 鲁安怀

教育部造山带与地壳演化重点实验室, 北京大学地球与空间科学学院, 北京 100871; [†]通信作者, E-mail: rxhao@pku.edu.cn

摘要 结合激光吸收光谱和紫外-可见分光光度计原理, 利用亚硝酸根和对氨基苯磺酸以及 N-1-萘基-乙二胺盐酸盐反应后生成紫红色染料, 对绿色半导体激光管发出的 532 nm 波长的光束有特异性吸收特性, 尝试制作一种激光亚硝酸盐测定仪。结果表明, 亚硝酸钠浓度在 0~1.4 ng/ μ L 范围内, 上述紫红色染料对波长 532 nm 的激光的吸收与亚硝酸钠含量呈良好线性关系。通过与经典格氏法平行对比, 结果表明该测定仪测定的自然水样中亚硝酸盐含量与经典格氏法测定的结果有很好的吻合度, 能够获得较高精度的测定结果。

关键词 激光吸收光谱; 亚硝酸盐; 半导体激光

中图分类号 X833

Feasibility of Measuring Nitrite with Semiconductor Laser

WU Feng, HAO Ruixia[†], JIANG Yuan, YANG Shiqin, LU Anhuai

The Laboratory of Orogenic Belts and Crustal Evolution (MOE), School of Earth and Space Sciences, Peking University, Beijing 100871; [†] Corresponding author, E-mail: rxhao@pku.edu.cn

Abstract Based on the principle of laser absorption spectrum and ultraviolet-visible spectrophotometer, a nitrite tester was built which takes use of the characteristics that the purple dye generated by the reaction of nitrite, amino benzene sulfonic acid and N-1-naphthyl ethylenediamine hydrochloride, specifically absorbs the 532 nm light produced by the semiconductor laser diode. It has been verified by the experiment that the absorption of the light beam by the purple dye had good linear relationship with the concentration of sodium nitrite within 0 to 1.4 ng/ μ L. Compared with the Griess reagent colorimetric method, the tester can obtain accurate results when it measures nitrite concentration in the natural water samples.

Key words laser absorption spectroscopy; determination of nitrite; semiconductor laser

亚硝酸盐是氮循环中活跃的中间体, 氨氧化不完全或者硝酸根还原不完全都可以产生亚硝酸盐, 亚硝酸盐广泛存在于许多物质如水、土壤、蔬菜以及腌菜中^[1]。亚硝酸盐作为一种食品添加剂, 能够保持食品的色、香、味, 并有一定的防腐作用^[2], 也是工业生产中重要的水基产品金属防腐剂^[3], 有重要的应用价值。亚硝酸盐对生物体有严重毒害作用, 进入人体之后, 可与血红蛋白结合使其失去运输氧的能力^[4]; 可与蛋白质分解产生的胺类化合物

反应生成亚硝胺化合物, 有强烈的致癌作用^[5]; 可以通过胎盘致使胎儿产生明显的致癌、致畸、致突变作用^[6]。因此, 我国已经在很多行业禁止使用亚硝酸盐, 亚硝酸盐成为水质、环境、食品、毒品分析的一个重要检测项目。

目前, 亚硝酸盐含量的测定方法主要有紫外-可见分光光度法、催化动力学光度法、荧光分光光度法、化学发光法、极谱法、离子色谱法和离子选择电极电位法等。一些学者对上述方法进行了详

细的比较和评述^[7-10]。从实验操作和所用仪器考虑,紫外-可见分光光度法与催化动力学光度法比较相似,都是在待测试液中定量加入或不加某种显色剂,在某一特定波长下测试其吸光度与参比溶液吸光度的差值,对比标准曲线后,得出待测溶液中亚硝酸盐的含量。在紫外-可见光波长范围内,测定亚硝酸盐的标准方法是重氮偶联比色法,在酸性条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸生成重氮盐,再与 N-1-萘基-乙二胺盐酸盐(或 α -萘胺)偶联生成紫红色染料,在某一特定波长下测定吸光度。由于所需试剂是毒性较大的致癌物质,已有相当数量的替代试剂报道,试剂种类、数量改变,测试波长、检出限、线性范围略有不同。催化动力学光度法是在酸性介质下,亚硝酸盐灵敏地催化溴酸钾(或氯酸钾)氧化还原性染料,使之褪色,在反应进行一定时间后,通过降温、改变 pH 等方法终止反应,在某一特定波长下测定吸光度。

激光是一种亮度、准直性、单色性、稳定性都极高的人造光源,其中绿激光的波长为 532 nm。5~100 mW 的绿色半导体激光二极管在我国市场上有稳定供应,随着我国光伏产业的发展,优质硅光电池市场供应稳定,并且价格便宜。经试验,硅光电池对 532 nm 激光有很好的响应。按照光谱分析对光源和检测器的要求,上述两种低价材料完全可以用于最大吸收波长在 532 nm 左右的光度分析。本文就以上述两种材料制作亚硝酸盐离子浓度测定仪的可行性进行探讨。

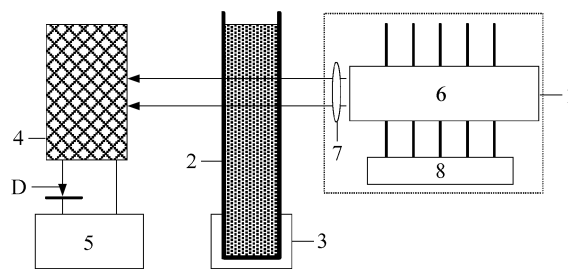
1 材料与方 法

1.1 实验仪器

主要仪器为 721 型紫外-可见分光光度计和自制激光亚硝酸盐测定仪。

1.1.1 激光亚硝酸盐测定仪的制作

图 1 为自制激光亚硝酸盐测定仪的示意图,其中 532 nm 半导体激光管的功率为 10 mW,驱动电压为 3.0~3.7 V,利用光学镀膜透镜进行准直,采用锂电池供电,用稳压模组将电压稳定在 3.02 V,定制铝合金散热鳍片,以 4 cm 散热风扇对散热片和驱动芯片进行主动散热。采用滴胶板 ICO-SPC-45MA0.5V 硅光电池,峰值电压为 0.5 V,峰值电流为 45 mA。电压表通过 1N5819 肖特基二极管连接硅光电池,采用 3 位半数显电压表,量程 0~1.999 V。整套系统整合于铝制金属盒内。



1. 光源系统; 2. 比色皿; 3. 样品槽; 4. 硅光电池; 5. 电压表; 6. 激光器; 7. 准直器; 8. 散热器; D. 二极管

图 1 激光亚硝酸盐测定仪示意图
Fig. 1 Sketch of laser nitrite tester

1.1.2 测定原理和方法

激光光束通过透明液体时,由于吸收等作用,出射光束强度相对于入射光束会有一定程度的减弱,对该波长激光有较好响应的硅光电池可以将这种变化转变为电信号,通过电压表测定硅光电池产生的电动势变化 U_0-U_1 ,即可将上述光束强度变化进行表征。若 U_0-U_1 与溶液中亚硝酸根含量有较好的线性关系,则根据该原理制作激光亚硝酸根测定仪即是可行的。

开机并等待电压表数值稳定(10~30 秒),将盛有未显色试样的比色皿放于样品槽,记下电压表数值 U_0 ,换上显色稳定的待测试样,读取电压表数值 U_1 ($U_0 > U_1$),以 U_0-U_1 表示待测试样中亚硝酸盐在此测定仪上引起的光吸收值。

1.2 试剂

本实验共测定 5 种自然水样的亚硝酸盐浓度。水样分别采集于北京大学西门路路南荷塘、路北水塘、西门鱼塘、未名湖翻尾石鱼附近、未名湖石舫附近,分别编号为 HT, XC, YT, SY 和 SF,采样时间为 2013 年 11 月 4 日 14—15 时。

称取经 105℃ 烘干 24 小时的亚硝酸钠 1.0000 g,以二次去离子水定容为 100 mL,连续稀释 1000 倍后,得到 10 ng/ μ L 亚硝酸钠溶液,标记为 1 号。称取 21.01 g 一水合柠檬酸定容为 100 mL,标记为 2 号。称取 0.1000 g 无水对氨基苯磺酸定容为 100 mL,标记为 3 号。称取 0.0500 g N-1-萘基-乙二胺盐酸盐,定容为 100 mL,标记为 4 号。称取 4.0000 g NaOH 定容为 100 mL。称取 1.0000 g 经 105℃ 烘干 24 小时的 NaCl, KCl, ZnCl₂, CaCl₂, MgCl₂, FeCl₂, FeCl₃, AlCl₃ 和 MnCl₂,并分别定容至 100 mL,得到干扰离子溶液。

除特殊说明外,实验所用化学药品均采用国药集团化学试剂有限公司生产的分析纯试剂。

1.3 实验操作

1.3.1 经典格氏法

于 10 mL 比色管中加入 1 mL 1 号溶液、1 mL 2 号溶液和 1 mL 3 号溶液,150 rpm 振荡 5 分钟后,使用 NaOH 溶液调节 pH 至 10。之后,加入 1 mL 4 号溶液,定容为 10 mL,此时亚硝酸钠浓度为 1 ng/ μ L。150 rpm 振荡 5 分钟,用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度,每 5 分钟记录一次数据,测定时间为 30 分钟。

1.3.2 改进格氏法

于 10 mL 比色管中加入 1 mL 1 号溶液、1 mL 2 号溶液和 1 mL 3 号溶液,150 rpm 振荡 5 分钟,加入 1 mL 4 号溶液,定容为 10 mL,此时亚硝酸钠浓度为 1 ng/ μ L。150 rpm 振荡 5 分钟,用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度,每 5 分钟记录一次数据,测定时间为 30 分钟。

1.3.3 无水对氨基苯磺酸对吸光度影响

于 11 只 10 mL 比色管中都加入 1 mL 1 号溶液和 1 mL 2 号溶液后,分别加入 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, ..., 1 mL 3 号溶液,150 rpm 振荡 5 分钟后,均加入 1 mL 4 号溶液,定容为 10 mL,此时亚硝酸钠浓度为 1 ng/ μ L。150 rpm 振荡 5 分钟,用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度。

1.3.4 柠檬酸对吸光度影响

于 9 只 10 mL 比色管中均加入 1 mL 1 号溶液后,分别加入 0, 0.2, 0.4, ..., 1.6 mL 2 号溶液,然后均加入 0.7 mL 3 号溶液,150 rpm 振荡 5 分钟后,均加入 1 mL 4 号溶液,定容为 10 mL,此时亚硝酸钠浓度为 1 ng/ μ L。150 rpm 振荡 5 分钟,用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度。

1.3.5 N-1-萘基-乙二胺盐酸盐对吸光度影响

于 6 只 10 mL 比色管中均加入 1 mL 1 号溶液、1.2 mL 2 号溶液和 0.7 mL 3 号溶液,150 rpm 振荡 5 分钟后,分别加入 0, 0.2, 0.4, ..., 1.0 mL 4 号溶液,定容为 10 mL,此时亚硝酸钠浓度为 1 ng/ μ L。150 rpm 振荡 5 分钟,用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度。

1.3.6 标准曲线绘制

于 21 只 10 mL 比色管中分别加入 0, 0.1, 0.2, 0.3, ..., 2.0 mL 1 号溶液后,均加入 1.2 mL 2 号溶液和 0.7 mL 3 号溶液。150 rpm 振荡 5 分钟后,加

入 0.4 mL 4 号溶液,定容为 10 mL,此时亚硝酸钠浓度为 0, 0.1, 0.2, 0.3, ..., 2.0 ng/ μ L。用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度,用自制激光亚硝酸盐浓度计测定电压值。

1.3.7 干扰离子共存实验

于 9 只 10 mL 比色管中均加入 1 mL 1 号溶液、1.2 mL 2 号溶液和 0.7 mL 3 号溶液,150 rpm 振荡 5 分钟后,均加入 0.4 mL 4 号溶液,然后分别加入 10 g/L 的 NaCl, KCl, ZnCl₂, CaCl₂, MgCl₂, FeCl₂, FeCl₃, AlCl₃, MnCl₂ 1.0 mL,定容为 10 mL,此时亚硝酸钠浓度都为 1 ng/ μ L。实验开始采用的各干扰离子浓度都起始于 10000 ng/ μ L 用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度,用自制激光亚硝酸盐浓度计测定电压值。若在该浓度干扰离子存在时,在激光分光光度计上所测 $(U_0-U_1)_{\text{测}}/(U_0-U_1)_0$ 小于 99% 或大于 101%,则降低该干扰离子浓度,直至在该浓度干扰离子存在下, $99\% < (U_0-U_1)_{\text{测}}/(U_0-U_1)_0 < 101\%$ 。

1.3.8 自然水样亚硝酸盐含量及加标回收率测定

于 5 只 10 mL 比色管中,分别加入所采集的 5 种自然水样 5 mL, 1 mL 2 号溶液和 0.7 mL 3 号溶液,150 rpm 振荡 5 分钟后,加入 1 mL 4 号溶液,并定容为 10 mL。150 rpm 振荡 5 分钟,用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度,用自制激光亚硝酸盐浓度计测定电压值。另取 5 只 10 mL 比色管,分别加入所采集的 5 种自然水样 5 mL, 1 mL 1 号溶液, 1 mL 2 号溶液和 0.7 mL 3 号溶液,150 rpm 振荡 5 分钟后,再加入 1 mL 4 号溶液,并定容为 10 mL。150 rpm 振荡 5 分钟,用紫外-可见光分光计 532 nm 波长测定吸光度,用自制激光亚硝酸盐浓度计测定电压值。

2 结果及讨论

用柠檬酸和氢氧化钠调节反应体系 pH。表 1 数据显示,仅添加一定量柠檬酸将体系 pH 调节为弱酸性,使亚硝酸盐和对氨基苯磺酸反应后,不使用氢氧化钠将体系 pH 调成弱碱性,直接添加 N-1-萘基-乙二胺盐酸盐溶液,吸光度能更快稳定,可以加快测量速度,且吸光度要大得多。因此,后面实验均不采用氢氧化钠调节 pH,直接添加 N-1-萘基-乙二胺盐酸盐溶液,定容振荡后直接测量吸光度。

图 2 显示,在该体系中添加 0.7 mL 浓度为 1 g/L 的对氨基苯磺酸时,吸光度最大,且在 0.7

表 1 经典格氏法与改进格氏法吸光度对比

Table 1 Absorbance contrast between classic and modified Griess reagent colorimetric analysis

t/min	吸光度 A	
	经典格氏法	改进格氏法
0	0.074	0.695
5	0.082	0.694
10	0.089	0.695
15	0.093	0.696
20	0.095	0.695
25	0.094	0.694
30	0.095	0.695

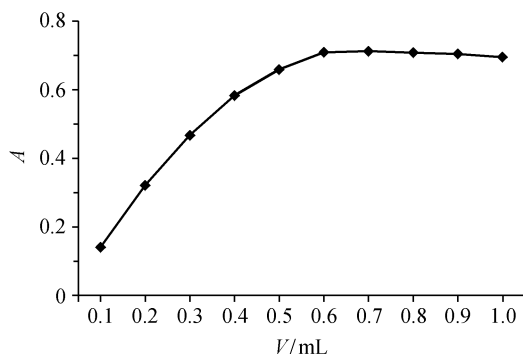


图 2 对氨基苯磺酸添加量对吸光度影响

Fig. 2 Effect of content of aminobenzenesulfonic acid on absorbance

mL 处吸光度相对较为稳定, 故在后续的实验体系中, 2 号溶液添加量均为 0.7 mL。

图 3 表明, 在体系中加入 0.5 g/L 的 N-1-萘基-乙二胺盐酸盐溶液 0.4 mL 时, 吸光度达到最大, 且其附近的吸光度较为稳定, 故在后续的实验体系中 3 号溶液添加量均为 0.4 mL。

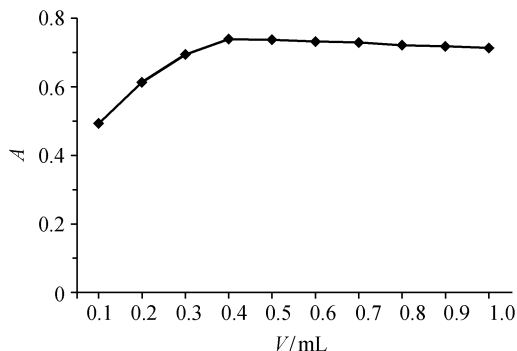


图 3 N-1-萘基-乙二胺盐酸盐添加量对吸光度的影响

Fig. 3 Effect of content of N-1-naphthyl ethylenediamine hydrochloride on absorbance

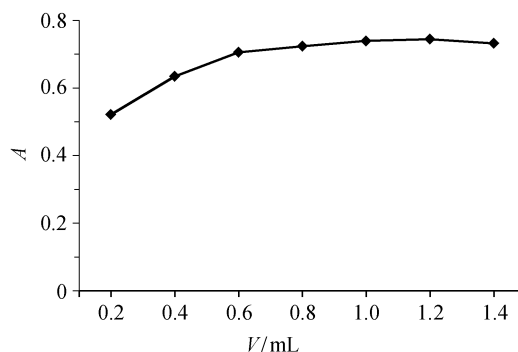


图 4 柠檬酸用量对吸光度的影响

Fig. 4 Effect of dosage of citric acid on absorbency

由图 4 可见, 在体系中加入浓度为 210.01 g/L 的柠檬酸溶液 1.2 mL 时, 吸光度达到最大, 且其附近的吸光度较为稳定, 故在后续的实验体系中, 1 号溶液添加量均为 1.2 mL。

利用 721 型紫外-可见分光光度计测定溶液的亚硝酸根, 线性范围为 0~1.9 ng/μL, 检测精度为 0.0013 ng/μL, 线性回归方程: $A=0.0267+0.7008C$ (ng/μL), 相关系数为 0.9997, 如图 5 所示。

利用自制亚硝酸盐测定仪检测溶液的亚硝酸根, 线性范围为 0~1.4 ng/μL, 检测精度为 0.008 ng/μL, 线性回归方程: $U_0-U_1=0.1091+0.0072C$ (ng/μL), 相关系数为 0.9994, 如图 6 所示。

实验测定, 在 NaCl, KCl, ZnCl₂, CaCl₂, MgCl₂, FeCl₂, FeCl₃, AlCl₃, MnCl₂ 浓度分别为亚硝酸钠浓度的 1000, 500, 500, 500, 500, 500, 500, 500, 300, 300 和 300 倍时, $(U_0-U_1)_{\text{扰}}/(U_0-U_1)_0 < 101\%$ 及 $A_{\text{扰}}/A_0 > 99\%$ 。在以上浓度的各种干扰离子存在的条件下, 用该方法测定亚硝酸盐含量可以保证 99% 以上的准确度。

由表 2 可见, 用自制激光亚硝酸盐测定仪测定的自然水样的亚硝酸盐含量与用紫外-可见分光光度计测定的自然水样的亚硝酸盐含量的相符度为 95%~102%。紫外-可见分光光度计加标回收率约 98.5%~101.7%, 自制激光亚硝酸盐测定仪的加标回收率约 97.9%~102.3%, 符合度较高。

本实验中自制的激光亚硝酸盐测定仪与市场成熟的分光光度计相比, 在检测下限、回收率等方面还存在不足, 主要问题在于半导体激光管的稳定性。半导体激光管的功率较容易受环境温度影响, 而激光管在工作过程中会产生大量的热量, 使激光管温度升高, 导致激光管功率不稳定, 直接导致最

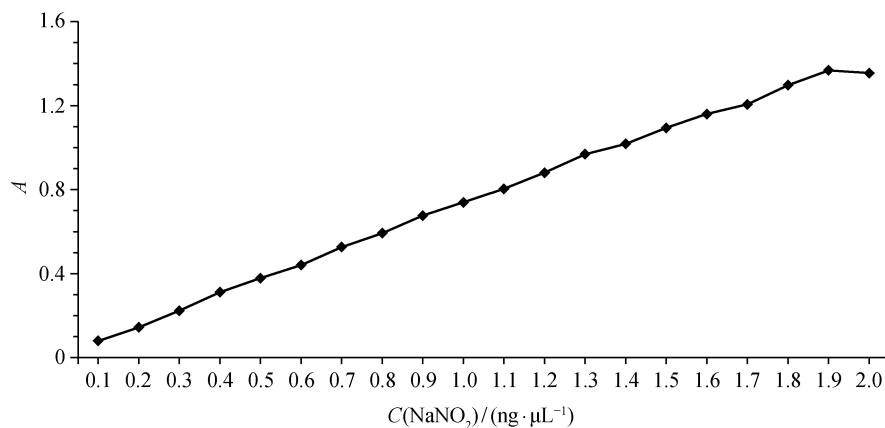


图 5 721 紫外-可见光分光计标准曲线

Fig. 5 Standard curve made by 721 Ultraviolet-visible spectrophotometer

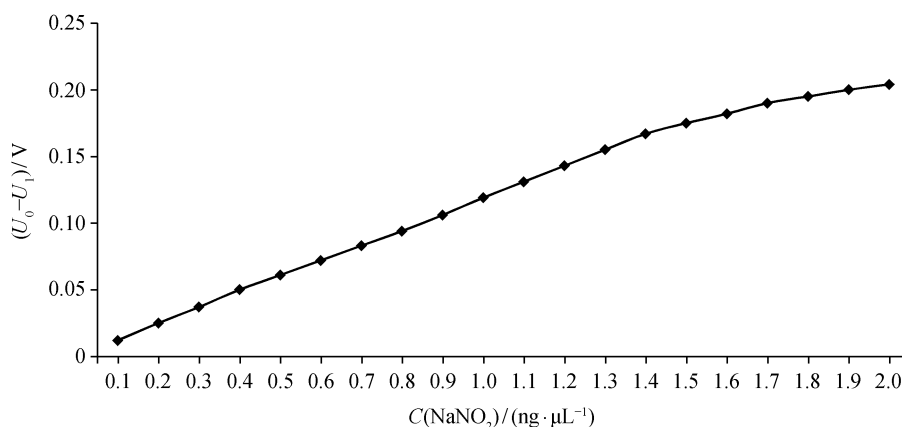


图 6 激光亚硝酸根测定仪标准曲线

Fig. 6 Standard curve made by laser nitrite tester

表 2 天然水样的亚硝酸盐含量及加标回收率测定
Table 2 Content of nitrite of natural water samples and measuring of adding mark recovery rate

水样	C_a	C_b	C_a/C_b	加标回收率 _a /%	加标回收率 _b /%
HT	1.130	1.10	0.9734	100.1	97.85
XC	0.906	0.92	1.0154	101.7	102.29
YT	1.136	1.08	0.9507	99.57	98.37
SY	0.584	0.56	0.9580	98.54	97.39
SF	0.450	0.46	1.0222	99.34	102.03

说明: C_a 为格氏法测定水样中亚硝酸盐数据, C_b 为激光亚硝酸盐测定仪测定水样中亚硝酸盐数据, 加标回收率_a 为格氏法加标回收率, 加标回收率_b 为激光亚硝酸盐测定仪加标回收率。

终用于表征光强的电压表示数不稳定。本实验中仅采用散热风扇和铝制散热片散发激光管工作过程中产生的热量, 较为有效地稳定了激光管工作时的实

际功率。在用 3 位半电压表表征激光管光束强度时, 经过 10~30 秒的预热, 电压表的示数在一定时间内(40 分钟内)较为稳定。在尝试将更高精度的 4 位半电压表接入电路, 用于测量硅光电池产生的电动势时, 电压表示数的最后一位始终不能稳定下来, 导致本实验中的激光亚硝酸盐测定仪对亚硝酸盐的检测下限最低只有 0.008 ng/L 左右。后续工作将围绕激光管工作温度控制方面进行, 可以尝试使用半导体制冷热片以及数字温度控制芯片, 进一步对激光管工作时的的工作温度进行控制, 以期可以用更高精度的电压表对光线强度进行表征, 使精度提高到 4 位半时, 检测下限及检测精度可达到 10^{-4} ng/ μ L。

截至 2010 年, 国内已报道的利用经典格氏法测定亚硝酸盐含量的方法, 其线性范围主要集中在 0~5 ng/ μ L, 检测下限集中在 0.001~0.01 ng/ μ L。用

催化光度法测定亚硝酸盐含量,虽然可以取得较好的检测下限,但是在测定过程中一般均需要使用水浴,并且要非常精准地控制反应时间,否则会出现重复率较低的现象。紫外光度法检测下限可达 0.0069 ng/ μ L, 有较高的灵敏度,但是所测数据需要较复杂的数学处理或需要采用双波长,甚至三波长法进行测定,增加了实验测定和数据处理的复杂程度^[11]。与本实验中激光亚硝酸盐测定仪相比,上述传统方法都需要较精密、贵重的大型仪器,不方便携带至采样现场进行测定。自然水体中的亚硝酸盐含量容易发生变化,将样品带回实验室测定,亚硝酸根的含量会有所改变。本实验研制的激光亚硝酸盐测定仪安装在一个长宽高分别为 13 cm, 8 cm, 5 cm 的金属盒内,质量为 278 g,体积小、质量轻、方便携带,适合现场测定。

本实验自制的激光亚硝酸盐测定仪,仅需要一根 10 mW 半导体激光管(70 元)、散热系统(15 元)、稳压系统(13 元)、电压表(12 元)、硅光电池(0.6 元)、肖特基二极管及导线若干(0.5 元)、金属盒(10 元)和锂电池(41 元),成本合计 162.1 元,相比上述几种实验方法所使用的仪器,成本要低很多。由于无须棱镜、光栅等分光系统,无须信号收集、放大系统等复杂、精密的系统,仪器的抗颠簸性、耐用性、易维护性更加突出。

环境水样中的硝酸根测定的国家标准方法都采用镉还原柱等方法^[12-13],将硝酸根还原成亚硝酸盐后进行测定。所以,若配备镉柱,本实验自制的激光亚硝酸盐测定仪还可在野外或实验室进行硝酸根的测定。

3 结论

经过实验对比,利用廉价材料制作的激光亚硝酸盐测定仪测定自然水样中亚硝酸盐含量是可行的,与传统方法测定结果的符合程度较高。但是,在后续工作中需要加强仪器的稳定性,进一步提高精度。

因为半导体激光器体积很小,所组装的亚硝酸盐测定仪体积很小,方便携带,可以在野外就地测

定环境水样中亚硝酸盐含量,可以保证测试结果的真实性和可靠性。

参考文献

- [1] 吴湘江,刘狄,刘凤萍,等. 催化动力学光度法测定痕量亚硝酸盐:亚硝酸盐-中性红-溴酸钾体系. 理化检验:化学分册, 2005, 41(3): 211-212
- [2] 姜洪波,李应辉,郎德龙. 催化动力学光度法测定痕量亚硝酸盐. 杭州师范学院学报:自然科学版, 2005, 4(1): 53-54
- [3] 王知彩,崔平,舒桂英. 二甲酚橙催化光度法测定亚硝酸盐的研究. 分析试验室, 2001, 20(5): 30-31
- [4] 吴兰菊,方克鸣,陈建荣,等. 2-(2-噻唑偶氮)-对甲苯酚-SCN-体系分光光度法测定微量亚硝酸盐. 光谱实验室, 2005, 22(4): 723-725
- [5] 赵二劳,李满秀,赵丽婷. 荧光光度法测定亚硝酸盐的研究进展. 冶金分析, 2007, 27(8): 28-32
- [6] 张联. N-亚硝基化合物的致突变性致畸性和通过胎盘致癌作用. 国外医学卫生学分册, 1984(4): 197-202
- [7] 李党生,张尧旺. 亚硝酸盐测定方法研究进展. 黄河水利职业技术学院学报, 2005, 17(1): 50-52
- [8] 严小平,李成平,童建颖,等. 溴酸钾-猩红 3B 体系中催化光度法测定痕量亚硝酸盐. 光谱实验室, 2006, 23(3): 428-430
- [9] 王金中,李艳霞. 催化动力学极谱法测定痕量亚硝酸盐. 信阳师范学院学报:自然科学版, 2005, 18(4): 434-436
- [10] 刘建坤,朱家平,郑荣华. 水中亚硝酸盐检测标准方法比较及其研究进展. 资源调查与环境, 2009, 30(4): 301-304
- [11] 邱罡,陈宜菲. 国内光度法测定亚硝酸盐进展. 光谱实验室, 2010, 27(3): 900-907
- [12] GB/T 12763.4—2007 Specifications for oceanographic survey—Part 4: survey of chemical parameters in seawater [S], 19-34
- [13] GB 17378.4—2007 Specifications for marine monitoring—Part 4: seawater analysis [S], 115-117