

高效液相色谱 - 荧光检测法测定饮用水中的亚硝酸盐

马勇军, 陈德兰*

(石柱土家族自治县疾病预防控制中心, 重庆 409199)

摘要: 目的 评价高效液相色谱 - 荧光检测法测定饮用水中的亚硝酸盐应用价值。**方法** 采集矿泉水、自来水与水源水作为水标本, 应用高效液相色谱 - 荧光检测法测定, 分析该方法检测优势及水标本中亚硝酸盐衍生物 2,3-萘三唑稳定性。**结果** 纯水中检测出亚硝酸盐浓度为 0.6 $\mu\text{g/L}$, 峰形好且无杂质干扰; 高效液相色谱 - 荧光检测法的检出限为 0.3 $\mu\text{g/L}$, 定量限为 1 $\mu\text{g/L}$; 亚硝酸盐衍生后, 衍生物稳定性较高, 在 7 d 内开展测定误差小; 亚硝酸盐加标回收率在 90.29%-102.60% 之间, 精密度在 0.71%-3.66%。**结论** 高效液相色谱 - 荧光检测法测定饮用水中的亚硝酸盐具有准确性、便捷性等特征, 为饮用水安全监测提供重要的技术支持。

关键词: 饮用水; 亚硝酸盐; 高效液相色谱 - 荧光检测法测定

Determination of nitrite in drinking water by high-performance liquid chromatography fluorescence detection method

MA Yong-Jun, CHEN De-Lan*

(Shizhu Tujia Autonomous County Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 409199, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the application value of high-performance liquid chromatography fluorescence detection method for determining nitrite in drinking water. **Method** Collect mineral water, tap water, and source water as water samples, and use high-performance liquid chromatography fluorescence detection method to determine. Analyze the detection advantages of this method and the stability of nitrite derivative 2,3 naphthalene triazole in the water standard. **Result** The nitrite concentration detected in pure water was 0.6 $\mu\text{g/L}$, with good peak shape and no impurity interference; The detection limit of high-performance liquid chromatography fluorescence detection method is 0.3 $\mu\text{g/L}$, and the quantitative limit is 1 $\mu\text{g/L}$; After derivatization with nitrite, the stability of the derivative is high, and the measurement error is small within 7 days; The recovery rate of nitrite spiking is between 90.29%-102.60%, and the precision is between 0.71%-3.66%. **Conclusion** The determination of nitrite in drinking water by high-performance liquid chromatography fluorescence detection method has the characteristics of accuracy and convenience, providing important technical support for drinking water safety monitoring.

KEY WORDS: drinking water; nitrite; high performance liquid chromatography fluorescence detection method for determination

* 通信作者: 陈德兰, 副主任技师, 研究方向为卫生检验。E-mail: 1239770661@qq.com

*Corresponding author: CHEN De-Lan, Deputy chief technician, Shizhu Tujia Autonomous County Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 409199, China. E-mail: 1239770661@qq.com

0 引言

亚硝酸盐是氮化合物在自然环境中的一种中间产物,若在饮用水中存在则代表水源不安全,水中存在活跃的微生物,长时间饮用能氧化血液中的铁,使血红蛋白变成高铁血红蛋白,导致携氧能力下降,严重时引起“蓝婴症”,特别是对婴幼儿危害更大^[1-2]。此外,亚硝酸盐是水体氮污染的重要成分之一,可导致水体富营养化,促进藻类过度繁殖,破坏生态平衡,导致水质恶化^[3-4]。所以,对饮用水中的亚硝酸盐进行检测,评估水源的安全性对人们生活及环境非常重要,其中分光光度法是一种应用率较高的检测水中亚硝酸盐方法,但该方法存在一定局限性,对水中的干扰物较为敏感,需对样本实施预处理清楚干扰物,检测过程较为烦琐。高效液相色谱-荧光检测法是结合高效液相色谱的高分离能力和荧光检测的高灵敏度和高选择性,成为一种强大的分析工具,在多个领域中具有广泛应用,能够提供准确、快速和可靠的分析结果,是现代分析化学中的重要方法之一。有相关研究者认为:高效液相色谱-荧光检测法在测定饮用水中的亚硝酸盐方面具有灵敏度高、选择性强、分离效率高和分析速度快等显著优势,其应用对于保障饮用水安全、进行环境监测和评估、执行法规和标准以及推动科学研究和技术发展具有重要意义,可更好地保护公众健康,确保饮用水的安全性和质量^[5-6]。因此,本文就针对高效液相色谱-荧光检测法测定饮用水中的亚硝酸盐价值开展分析,具体如下。

1 材料与方法

1.1 材料

选择成都优普超纯水净化系统与美国 Waters 公司生产的 Waters e2695 型高效液相色谱仪附 2475 FLR Detector 荧光检测器。选用 Sigma 公司生产的 2,3- 萘二胺,中国环境保护部标准样品研究所亚硝酸盐 100 mg/L。衍生试剂 2,3- 萘二胺溶液 63 mg/L 配比为:盐酸 60 mL 放入 100 mL 的容量瓶中,选择 0.0063 g 2,3- 萘二胺放入 50 mL 烧杯中,用超纯水溶解后加入 100 mL 容量瓶中,再用超纯水定容至刻度。

1.2 方法

(1) 样品处理:水样经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,并将 1-2 mL 液相放入瓶中,再加入 50 μL 2,3- 萘二胺衍生试剂。(2) 液相色谱条件:色谱柱为 5 μm, 4.6 mm×150 mm、进样量为 10 μL (Eclipse XDB-C8)、流速为 1 mL/min、流动相为水:乙腈 (70:30),柱温 30°。荧光检测:发射波长 415 nm、激发波长 375 nm。(3) 制备:采用超纯水与亚硝酸盐标准稀释成 1 mg/L 标准中间液,再用超纯水将中间液稀释为 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1 mg/L。(4) 亚硝酸盐及其衍生物稳定性试验:对矿泉水、自来水与水源水中含有的亚硝酸盐衍生物 2,3- 萘三唑开展时间为期

7 d 的稳定性试验,具体操作为:将矿泉水、自来水与水源水分为 3 份,选取 1 份按照样品处理方法衍生,对亚硝酸盐衍生物 2,3- 萘三唑开展 7 d 测定,获得 2,3- 萘三唑第 1 d 至 7 d 含量,对其他 2 份水标本中 1 份常温保存,1 份放入 -4°C 环境中保存,对水标本按样品处理方法后测定亚硝酸盐衍生物,共检测 7 d。

1.3 观察指标

对超纯净水水标本色谱图进行分析,探究高效液相色谱-荧光检测法的检出限与定量限。同时,对 3 份(矿泉水、自来水与水源水)水标本的亚硝酸盐及其衍生物稳定性试验结果进行记录,并分析不同水标本的亚硝酸盐加标回收率与精密密度。

2 结果与分析

2.1 超纯净水水标本色谱图

液相色谱条件分离柱为 C8,流动相为水:乙腈 (70:30),激发波长 375 nm,发射波长 415 nm,该方法在超纯水中检测出亚硝酸盐浓度为 0.6 μg/L,峰形好且无杂质干扰(见图 1-2)。

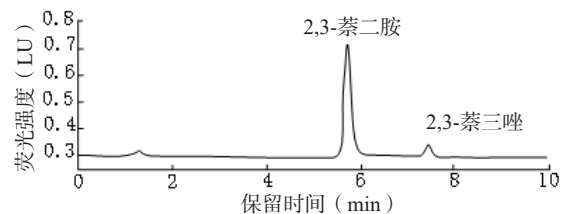


图 1 超纯净水水标本色谱图

Fig.1 Water specimen chromatogram of ultra-pure water

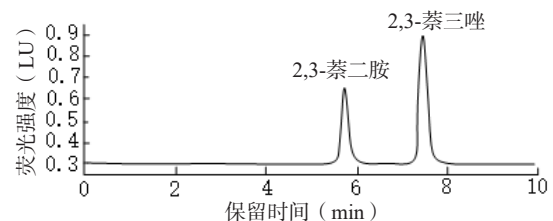


图 2 标准色谱图

Fig.2 Standard chromatogram

2.2 高效液相色谱-荧光检测法的检出限与定量限

超纯净水的水标本作为空白溶液,根据标本分析的步骤对 10 份空白标本进行测量,获取检测结果为 0.105 μg/L,用 3 倍标准偏差为此次研究方法的检出限,10 倍标准差为定量限,高效液相色谱-荧光检测法的检出限为 0.3 μg/L,定量限为 1 μg/L。

2.3 不同水标本亚硝酸盐及其衍生物稳定性试验结果

常温保存的水源水在 1 d 与 2 d 亚硝酸盐浓度接近,而其他水标本在 1 d 与 2 d 亚硝酸盐浓度均发生明显变化。亚硝酸盐在水中稳定性差,采集水标本后应立即进行测定。但亚硝酸盐衍生物后,衍生物稳定性较高,在 7 d 内开展测定误差小。具体结果见表 1。

表 1 不同水标本亚硝酸盐及其衍生化合物稳定性试验结果 (μg/L)
Table 1 Stability test results of nitrite and its derived compounds in different water samples (μg/L)

时段	矿泉水			自来水			水源水		
	衍生	未衍生		衍生	未衍生		衍生	未衍生	
		常温	-4°C		常温	-4°C		常温	-4°C
1 d	1.06	1.16	1.18	2.33	2.31	2.32	4.29	4.31	4.29
2 d	1.10	2.17	2.17	2.40	5.60	1.26	4.28	4.30	4.85
3 d	1.11	0.55	0.86	2.51	3.78	2.57	4.30	5.31	5.30
4 d	1.11	0.89	1.11	2.54	1.07	3.27	4.30	6.02	5.11
5 d	1.12	1.44	1.18	2.60	12.49	0.36	4.31	5.11	5.07
6 d	1.14	0.98	1.33	2.63	6.27	0.35	4.32	6.47	4.08
7 d	1.21	0.60	1.55	2.62	7.54	2.60	4.33	6.50	4.07

2.4 不同水样亚硝酸盐加标回收率与精密度

抽选矿泉水、自来水与水源水各 8 份, 共 24 份, 其中 6 份为空白, 剩余水标本加入低中高浓度的亚硝酸盐, 按照液相色

谱条件方法开展分析, 并进行至少 6 次测定, 亚硝酸盐加标回收率在 90.29%-102.60% 之间, 精密度在 0.71%-3.66%。具体结果见表 2。

表 2 不同水样亚硝酸盐加标回收率与精密度
Table 2 Standard recovery and precision of nitrite in different water samples

水标本	本底值 (mg/L)	加入量 (mg/L)	测定值 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
矿泉水	0.000671	0.005	0.00516	90.29	2.75
		0.020	0.00200	90.29	3.66
		0.100	0.10000	90.29	2.38
自来水	0.000637	0.005	0.00581	102.60	2.67
		0.020	0.0201	98.10	2.83
		0.100	0.0973	96.61	1.08
水源水	0.0175	0.005	0.0222	98.00	2.01
		0.020	0.0370	98.01	0.71
		0.100	0.1150	97.71	1.60

3 讨论与结论

饮用水中的亚硝酸盐主要来源于农业活动 (农业中广泛使用含氮化肥, 化肥在土壤中分解后, 部分氮化合物会渗入地下水, 形成硝酸盐和亚硝酸盐、畜牧业产生的大量动物粪便也含有高浓度的氮化合物, 这些化合物通过雨水冲刷进入水源)、工业污染 (某些工业生产会排放含氮废水, 这些废水如果未经处理排放, 会污染水体, 增加亚硝酸盐含量)、污水排放 (城市生活污水中含有较多的有机氮化合物, 处理不当或处理不完全的污水排放会导致水体氮污染) 和自然环境 (自然界中, 硝化和反硝化细菌在氮循环过程中会产生亚硝酸盐) 中的氮循环过程^[7-8]。亚硝酸盐与胃中的胺类物质结合形成亚硝胺类化合物, 这些化合物已被证实具有强致癌性, 长期摄入高浓度亚硝酸盐可能增加胃癌、食道癌和其他消化道癌症的风险, 还可引起急

性中毒, 表现为恶心、呕吐、头痛、腹痛和心血管系统障碍等症^[9-10]。若人们长时间饮用含有亚硝酸盐的水对机体健康非常不利, 更可导致环境受到污染, 提高对饮用水中亚硝酸盐检测的重视度非常有必要^[11-12]。

高效液相色谱 - 荧光检测法是一种结合高效液相色谱和荧光检测技术的分析方法, 该方法在检测灵敏度、选择性和多样性方面具有显著优势, 广泛应用于化学、制药、食品和环境分析等领域。高效液相色谱 - 荧光检测法不仅可以分离并定性分析目标化合物, 还能精确定量, 提供高重复性和可靠性的定量结果。本次研究中将高效液相色谱 - 荧光检测法测定饮用水中的亚硝酸盐价值更为显著, 发挥出极低检出限、高选择性、高分离效率、快速分析及定量精确等优势, 因此方法可以检测到纳摩尔级, 甚至皮摩尔级的亚硝酸盐, 通过适当的前处理或衍生化, 使亚硝酸盐具有荧光特性, 避免其他干扰物质的影响,

提高检测的特异性和准确性,还能够在较短时间内完成分离和检测过程,提高分析效率,适合批量样品的快速检测^[13-14]。高效液相色谱-荧光检测法具有良好的定量能力和高重复性,能够提供可靠的亚硝酸盐浓度数据,便于监测和评估水质,其应用对于保障饮用水安全、进行环境监测和评估、执行法规和标准以及推动科学研究和技术发展具有重要意义^[15]。

通过本次研究所得结果为:超纯水中检测出亚硝酸盐浓度为0.6 μg/L,峰形好且无杂质干扰;高效液相色谱-荧光检测法的检出限为0.3 μg/L,定量限为1 μg/L;亚硝酸盐衍生后,衍生物稳定性较高,在7 d内开展测定误差小;亚硝酸盐加标回收率在90.29%-102.60%之间,精密度在0.71%-3.66%;这说明水标本在亚硝酸盐酸性条件下,2,3-萘二胺衍生试剂衍生后,生成2,3-萘三唑用于该检测器检测,衍生化合物稳定性较为理想,这可避免因检测不及时或亚硝酸盐不稳定而导致结果偏差问题,而且高效液相色谱-荧光检测法测操作过程较为便捷,定性定量准确度高,对饮用水的亚硝酸盐测定较为适宜。

综上所述:高效液相色谱-荧光检测法测定饮用水中的亚硝酸盐价值颇高,可保障精密度及定性定量,有利于更好保护公众健康,确保饮用水的安全性和质量。

参考文献

- [1] 陈远萍,米建萍.饮用水中亚硝酸盐离子色谱法和光度法测定结果的比较分析[J].质量安全与检验检测,2021,31(04):9-11.
- [2] 薛方家,喻洁,尹航,等.基于三维荧光时间序列双阈值的饮用水污染事件检测方法研究[J].光谱学与光谱分析,2023,43(10):3081-3088.
- [3] 谢雨晗,尹亮亮,钱宇欣,等.紫外荧光法检测饮用水中铀的影响因素与不确定度评价[J].中华放射医学与防护杂志,2022,42(04):291-296.
- [4] 冯秀娟,高俊峰,董川.核酸等温环介导荧光检测法检测包装饮用水中的铜绿假单胞菌[J].食品科技,2023,48(01):310-314.
- [5] 王小芳,王姝婷,边天斌.高效液相色谱-荧光检测法测定饮用水中的亚硝酸盐[J].中国卫生检验杂志,2022,32(02):155-157.
- [6] 王立平,王丹,李赫婧,等.快速荧光PCR法检测包装饮用水中产气荚膜梭菌[J].食品科技,2023,48(07):292-298.
- [7] 吴蕾,李凌云,彭永臻.直接进样-全反射X射线荧光光谱快速测定饮用水微量元素[J].光谱学与光谱分析,2023,43(03):990-996.
- [8] 王静,鲍兴敏,孙璐,等.城市生活饮用水水质污染物检测方法研究[J].环境科学与管理,2022,47(05):108-112.
- [9] 刘向华.枣庄市市中区2019年至2022年生活饮用水检测结果分析[J].昆明医科大学学报,2023,44(05):43-46.
- [10] 潘华伟,戚华晨,许姗,等.二硫化钼-硫化镍复合物修饰电极测定河水及饮用水中亚硝酸盐[J].理化检验(化学分册),2021,57(01):20-25.
- [11] 王雪梅,张敏,叶玉栋,等.煮沸次数对11种水中亚硝酸盐含量变化的研究[J].天津科技,2022,49(06):30-34.
- [12] 陈景周,李樑,黄少漫,等.高压离子色谱法快速测定饮用水中溴酸盐和亚硝酸盐[J].食品与机械,2020,36(07):63-66.
- [13] 李凤.分析离子色谱检测仪测定生活饮用水中亚硝酸盐氮的效果[J].中国医疗器械信息,2021,27(12):66-67.
- [14] 陈磊,张玉娇,王雅璐,等.成都市饮用水源硝酸盐、亚硝酸盐健康风险评估[J].环保科技,2022,28(05):52-56,64.
- [15] 陈平.高压离子色谱法同时测定生活饮用水中亚硝酸盐、硝酸盐、硫酸盐、氯化物、氟化物[J].江苏预防医学,2023,34(05):592-593.

作者简介

马勇军,副主任技师,研究方向为卫生检验。
陈德兰,副主任技师,研究方向为卫生检验。