

荧光淬灭法测定三种蔬菜中铅(Ⅱ)含量

熊海涛

(陕西理工学院化学学院, 陕西汉中 723001)

摘要:酸性条件下,少量铅(Ⅱ)对氧氟沙星的荧光强度有淬灭作用,据此建立了一种测定铅(Ⅱ)含量的荧光光谱分析法。在优化的实验条件下,其荧光淬灭强度与铅(Ⅱ)浓度在 $3.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系,其检出限为 $8.4 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,相对标准偏差为3.2% ($c = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $n = 11$)。利用该法对三种蔬菜样品中铅(Ⅱ)含量的测定,回收率在94.46%~101.5%之间。

关键词:氧氟沙星, 荧光淬灭法, 铅(Ⅱ), 蔬菜

Fluorescence quenching method for the determination of plumbum(Ⅱ) in three kinds of vegetables

XIONG Hai-tao

(College of Chemistry, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China)

Abstract: It was found that plumbum(Ⅱ) could quench the fluorescent intensity of ofloxacin in acid medium. Thus, a fluorescent spectral method for the determination of trace plumbum(Ⅱ) was developed. Under the optimal experiment conditions, the fluorescent quenching intensity responded linearly with plumbum(Ⅱ) concentration in the range of $3.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. And a detection limit of $8.4 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ was estimated. The relative standard deviation(RSD) of this approach response to $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ plumbum(Ⅱ) was 3.2% for 11 successive measurements. This proposed method had been applied to detect the content of plumbum(Ⅱ) in three kinds of vegetable samples and the recovery was between 94.46% and 101.5%.

Key words: ofloxacin; fluorescence quenching method; plumbum(Ⅱ); vegetable

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)12-0070-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.12.005

铅作为重金属元素,是一种具有蓄积性、多亲和性的毒物,极易被植物吸收,可以通过食物链对人体新陈代谢和器官造成危害,引起人体神经系统疾病、中毒性多发性神经炎和中毒性脑病等^[1-2]。加上如今工业三废、汽油燃烧所造成的环境污染,尤其是由此造成的蔬菜中铅含量的上升更是时时威胁着人类的健康,这样蔬菜中铅元素含量也越来越被人们所重视。因此,建立起一种准确地检测蔬菜中痕量铅的方法就具有重要的现实意义^[3]。

目前,测定铅含量的方法主要有分光光度法^[4-5]、原子吸收光谱法^[6-7]、电感耦合等离子原子发射光谱法^[8-9]、原子荧光分析法^[10-11]、电化学分析法^[12-13]等。其中分光光度分析法干扰因素较多且灵敏度低,原子吸收法、电感耦合等离子原子发射法及原子荧光法对仪器要求较高,且操作步骤繁琐,而示波极谱法和方波溶出伏安法则会给环境带来二次污染^[12-13]。另外,也有文献报道利用DNA修饰电极来测定铅^[14-15],尽管检出限达到pmol级且选择性较高,但是复杂的

电极修饰过程和昂贵的试剂使得这种方法的使用受到极大限制。近些年,荧光分光光度法发展比较迅速,各种新型荧光分析技术,如激光诱导荧光法、同步荧光法、导数荧光法、荧光探针法、光化学荧光法、时间分辨荧光法、三维荧光法、偏振荧光法、荧光免疫测定法、荧光成像技术、荧光光纤传感器等不断涌现^[16]。但是常见的荧光分析法中主要是根据体系发生荧光淬灭或荧光增敏来实现对目标物的定量检测,是一种检测灵敏度高、选择性好和操作简便的分析方法,已广泛应用于痕量物质的测定。

本文根据氧氟沙星(Ofloxacin)具有荧光特性^[17],而铅可以与其生成络合物使其荧光强度降低,基于此建立了荧光淬灭法测定铅的新方法。应用该法测定三种蔬菜中的铅(Ⅱ)含量,具有操作简单、分析速度快、灵敏度较高等特点。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

芹菜、韭菜、小白菜样品 均购自当地农贸市场;铅(Ⅱ)标准储备液($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、氧氟沙星标准储备液($8.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、醋酸($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、盐酸($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、硫酸($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、氢氧化钠($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 用时稀释至所需浓度;所用试剂 均

收稿日期: 2013-08-13

作者简介:熊海涛(1979-),男,硕士研究生,讲师,研究方向:光谱分析。

基金项目:四川省广元市科技计划项目(GYKJ41429)。

为优级纯,实验所用水均为高纯水。

F-4600型荧光光度计 日本日立公司;AL204-IC型电子分析天平 梅特勒-托利多仪器上海有限公司;MH-1000型恒温电热套 北京科伟永兴仪器有限公司;DZKW-D型恒温水浴锅 山东化学仪器厂。

1.2 样品制备

将新鲜的芹菜、韭菜、小白菜样品用自来水、纯水洗净,自然晾干,然后取可食用部分,切碎,捣成匀浆。各称取试样5.0g置于锥形瓶中,加入25mL混合酸(硝酸:高氯酸=4:1),加盖浸泡过夜,在电热套上加热消解,当有大量棕色气体产生时,减小火力,并保持微沸状态,直至棕色气体消失,溶液变清并冒白烟为止,否则应补加少量硝酸继续消煮至溶液变清,冷却,将样品溶液转入50mL容量瓶中,用纯水少量多次洗涤锥形瓶,洗液合并于容量瓶中。对于同种蔬菜样品,再各平行处理两份。

1.3 实验方法

分别在两只50mL比色管中加入相同量的氧氟沙星与醋酸,然后在一只容量瓶中加入一定量的铅

(II)溶液,另一只不加入,用蒸馏水分别稀释至刻度线,摇匀,室温放置10min后,在确定的激发波长和发射波长下,测定未加铅溶液的荧光值 F_0 和加入一定量铅溶液的荧光值 F ,计算其荧光猝灭值 $\Delta F = F_0 - F$,以 ΔF 对铅(II)离子浓度做图,并以此对铅(II)离子来定量。

2 结果与讨论

2.1 铅与氧氟沙星作用后的荧光光谱图

在一定条件下,少量的 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 对氧氟沙星的荧光强度均具有猝灭作用,基于此分别建立了荧光猝灭法测定氧氟沙星与痕量 Fe^{3+} 的新方法^[18-19]。在20℃下,分别对加入铅($1.0 \times 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、醋酸($4.0 \times 10^{-3} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HAc)前后氧氟沙星($1.0 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的荧光光谱性质进行了考察(结果见图1与图2)。由此可以看出,氧氟沙星的最大激发波长与最大发射波长分别为285nm、495nm,且加入酸和铅后,最大激发和发射波长均不变,但是未加铅和酸时,氧氟沙星荧光强度为3822,加入铅后,荧光强度降为3506,再加一定量的酸,荧光强度降至3196,这说明少量醋酸的加入有助于铅(II)对氧氟沙星体系的荧光猝灭。所以,研究中采用氧氟沙星-铅(II)-醋酸作为反应

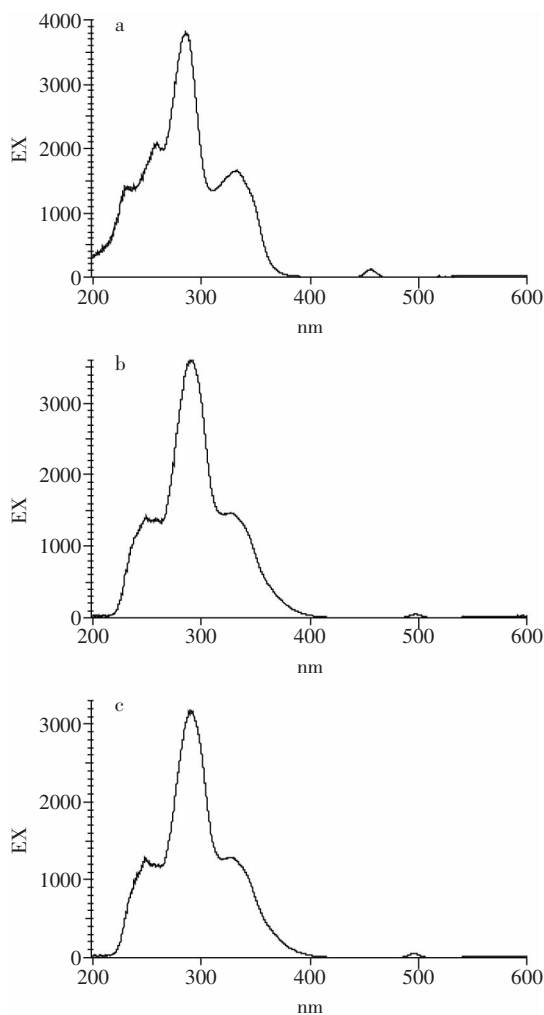


图1 荧光激发图谱

Fig.1 Fluorescence Excitation Spectrum

注:a.氧氟沙星;b.氧氟沙星-铅(II);c.氧氟沙星-铅(II)-醋酸;图2同。

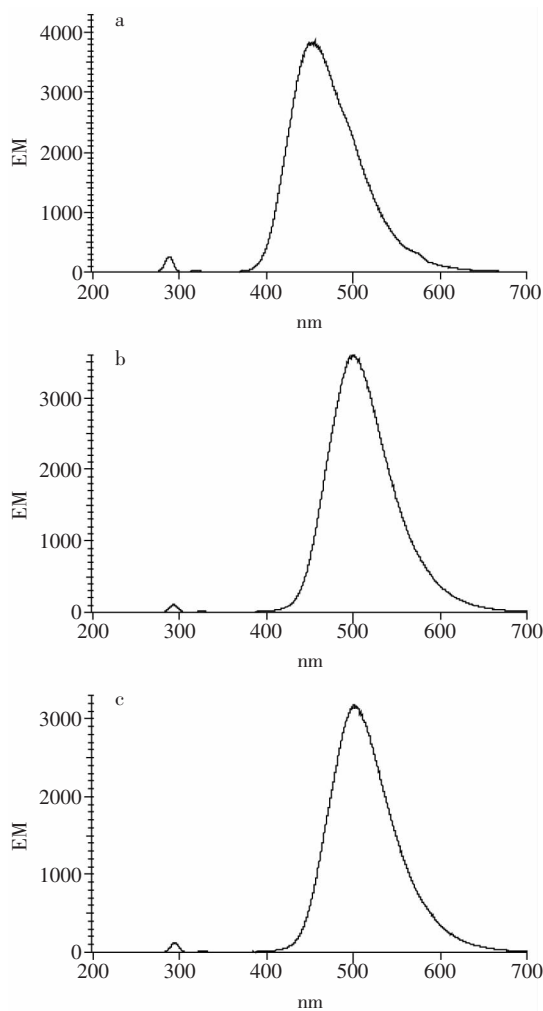


图2 荧光发射图谱

Fig.2 Fluorescence Emission Spectrum

体系。

2.2 反应介质及pH的选择

分别考察了浓度均为 $0.004\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸、硫酸及醋酸介质中,少量铅(II)对一定浓度的氧氟沙星体系的荧光强度的影响。结果表明,同浓度的醋酸介质中,铅(II)对氧氟沙星体系的荧光淬灭程度最大,这主要是由于在盐酸、硫酸介质中,铅(II)溶液生成沉淀,进而影响淬灭程度。且在不同pH条件下(利用醋酸与氢氧化钠进行调节),分别对氧氟沙星及氧氟沙星-铅(II)体系的荧光强度进行测定。从图3中可以看出,在pH为5时,铅(II)对氧氟沙星体系的荧光淬灭强度(ΔF)达到最大。因此,本文选择pH为5的醋酸作为最佳反应介质。

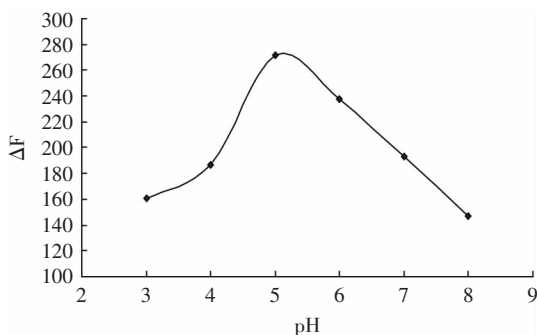


图3 pH对荧光淬灭强度的影响

Fig.3 Effect of pH value on fluorescence quenching intensity
注: $C(\text{Ofloxacin})=1.0\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $C(\text{Pb}^{2+})=1.0\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
 $t=10\text{min}$; $T=20^\circ\text{C}$ 。

2.3 氧氟沙星浓度的选择

为了考查氧氟沙星浓度对选定体系荧光淬灭值 ΔF 的影响,在以上所选出的醋酸介质中,分别在50mL比色管中加入氧氟沙星标准液0、0.50、1.00、3.00、5.00、8.00、10.00、15.00mL,同时各加入少量的铅标准使用液,作用一段时间后测定其荧光强度(如图4所示)。结果表明,随着氧氟沙星用量的增加,反应体系荧光淬灭强度逐渐增大,但是当增大到 $4.8\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 ΔF 达到最大值,继续增加氧氟沙星浓度, ΔF 基本保持不变,故选择氧氟沙星的最佳浓度为 $4.8\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

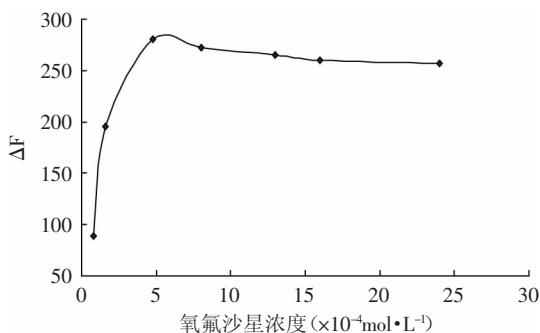


图4 氧氟沙星浓度对荧光淬灭强度的影响

Fig.4 Effect of ofloxacin concentration on fluorescence quenching intensity

注: $\text{pH}=5.0(\text{HAc})$; $C(\text{Pb}^{2+})=1.0\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $t=10\text{min}$; $T=20^\circ\text{C}$ 。

2.4 时间的选择

在上述选定条件下,考察了5~35min之间氧氟沙星-醋酸及氧氟沙星-铅(II)-醋酸反应体系的荧光强度(每隔5min)。从图5上发现,当反应25min后,铅对氧氟沙星-醋酸体系的荧光淬灭值达到最大,所以选择反应时间为25min。

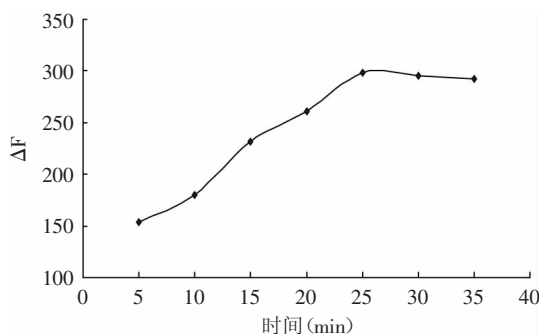


图5 时间对荧光淬灭强度的影响

Fig.5 Effect of time on fluorescence quenching intensity

注: $C(\text{Ofloxacin})=4.8\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $C(\text{Pb}^{2+})=1.0\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
 $\text{pH}=5.0(\text{HAc})$; $T=20^\circ\text{C}$ 。

2.5 反应温度的选择

分别将氧氟沙星-醋酸及氧氟沙星-铅(II)-醋酸两个体系在不同温度的热水浴上加热一段时间,测定其各自的荧光强度(如图6所示)。结果发现,醋酸介质中,少量的铅(II)对氧氟沙星的荧光淬灭程度随着反应温度的升高而下降,而在 20°C 下荧光淬灭程度最大。所以,选择 20°C 作为最佳反应温度。

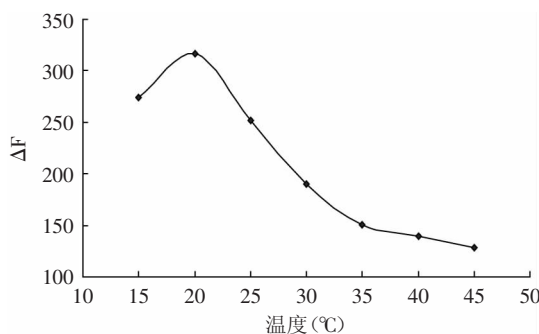


图6 温度对荧光淬灭强度的影响

Fig.6 Effect of temperature on fluorescence quenching intensity

注: $C(\text{Ofloxacin})=4.8\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $C(\text{Pb}^{2+})=1.0\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
 $\text{pH}=5.0(\text{HAc})$; $t=25\text{min}$ 。

2.6 工作曲线、相关系数与检出限

在选定的最佳实验条件下,铅的浓度在 $3.0\times 10^{-7}\sim 1.0\times 10^{-5}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (即 $0.06\sim 2.4\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)范围内与氧氟沙星的荧光淬灭强度(ΔF)呈良好的线性关系,线性回归方程为 $\Delta F=1813.2C(\times 10^5)-10.01$,相关系数 r 为0.9983;同时,对 $1.0\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铅溶液进行11次平行测定,其标准偏差为3.2%。根据IUPAC建议,计算得方法的检出限为 $8.4\times 10^{-8}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.7 干扰实验

在优化的实验条件下,选定铅(II)的浓度为

表1 蔬菜样品中铅含量测定与回收率实验 (n=3)

Table 1 Analytical results of plumbum (II) in vegetable samples and recovery test (n=3)

蔬菜样品	ICP-AES法测定值 (mol·L ⁻¹)	本法测定值 (mol·L ⁻¹)	实际含量 (mg·kg ⁻¹)	加标量 (mol·L ⁻¹)	测定总量 (mol·L ⁻¹)	回收率 (%)	RSD (%)
芹菜	3.10×10 ⁻⁷	3.17×10 ⁻⁷	0.3756	5.98×10 ⁻⁷	9.02×10 ⁻⁷	97.83	2.0
韭菜	3.95×10 ⁻⁷	4.03×10 ⁻⁷	0.4775	5.98×10 ⁻⁷	1.01×10 ⁻⁶	101.5	2.8
小白菜	2.50×10 ⁻⁷	2.59×10 ⁻⁷	0.3069	2.89×10 ⁻⁷	5.32×10 ⁻⁷	94.46	3.4

1.0×10⁻⁶mol·L⁻¹进行干扰实验的考察,当相对误差≤±5%时,研究一些常见的金属离子对荧光强度测定的影响。结果发现,加入500倍的K⁺、Na⁺、Mg²⁺; 100倍的Ca²⁺、Cu²⁺、Ba²⁺和30倍的Al³⁺、Zn²⁺, 10倍的Mn²⁺几乎不干扰测定结果。

2.8 样品测定与回收率实验

各分别取25.0mL样品溶液于50mL比色管中,按照1.3的实验方法,分别在以上所实验出的最佳条件下测定荧光强度,同时作试剂空白,并将测定结果与ICP-AES法测定值进行对照。另外,为了考察该方法的可靠性,我们对三种蔬菜样品中做了加标回收实验。从表1中可以看出,利用该法测定铅含量与ICP-AES法测定值基本一致,且三种蔬菜中铅含量(II)相差不大,其回收率在94.46%~101.5%之间,相对标准偏差均小于4%,这说明本文建立的方法具有较好的准确度和精密性。

3 结论

利用酸性条件下,铅(II)对氧氟沙星荧光强度的淬灭作用,而建立起了一种荧光光度法测定铅(II)含量的新方法。该方法操作简单、灵敏度较高,能用于测定芹菜、韭菜与小白菜中铅(II)含量,其回收率在94.46%~101.5%之间。另外,测定结果显示三种蔬菜中铅(II)含量均稍高于国标值(允许量标准为≤0.2mg·kg⁻¹)^[20],这也为食品监督部门提供了一种判断依据。

参考文献

- [1] 杨会琴,韩士田. 四-(4-苯基)吡啶(TPP)分光光度法测定松花蛋中铅的含量[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 414-417.
- [2] KNAPP CM, BREEN J J. Effects of tetraalkylammonium salts on the micellar electrokinetic chromatography of aniline and substituted anilines[J]. J Chromatogr: A, 2009, 799 (1/2): 289-299.
- [3] 马美华,李小华,杨爱萍,等. 催化动力学光度法对蔬菜中痕量铅的测定[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(11): 325-328.
- [4] 李兴扬,张栋. 二苯硫脲-CCl₄-萃取-分光光度法连续测定水样中铜和铅[J]. 理化检验-化学分册, 2007, 43(7): 561-563.
- [5] 毛蕾蕾,王宗花,邢琳琳,等. 羧基化碳纳米管在荧光光度法测定铅中的应用[J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(5): 830-833.

- [6] 王彩虹,李莉,赵川,等. 火焰原子吸收光谱法测定中药中重金属元素铅镉镍[J]. 理化检验-化学分册, 2010, 46(6): 624-626.
- [7] 李胜清,贺小敏,杜平,等. 微乳液进样-石墨炉原子吸收光谱法测定生物柴油及其原料菜籽油中铅含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(10): 2431-2435.
- [8] 刘崇华,黄理纳,余奕东. 微波消解电感耦合等离子体发射光谱法测定塑料中铅和镉[J]. 分析实验室, 2005, 24(2): 66-69.
- [9] 胡德新,王昊云,王兆瑞,等. 微波消解样品电感耦合等离子体原子发射光谱法测定铅精矿中铅砷镉汞[J]. 理化检验-化学分册, 2012, 48(7): 828-830.
- [10] 李达,杭义萍,吴彩云. 微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法测定出口芳香油中痕量铅[J]. 分析科学学报, 2009, 25(6): 738-740.
- [11] 邓大跃,吴丽萍,张楠,等. 原子荧光法测定茶叶中重金属铅残留方法研究[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2012, 40(4): 84-86.
- [12] 陈爱英,汪学英. 单扫描示波极谱法测定中草药中铅和镉[J]. 理化检验-化学分册, 2007, 43(8): 642-646.
- [13] 赵广英,吴艳燕. 方波溶出伏安法测定茶叶中的痕量铅[J]. 食品工业科技, 2007, 28(4): 213-216.
- [14] Yi Xiao, Aaron A Rowe, Kevin W Plaxco. Electrochemical detection of parts-per-billion lead via an electrode-bound DNAzyme assembly[J]. J Am Chem Soc, 2007, 129(2): 262-263.
- [15] Fen Ma, Bo Sun, Honglan Qi, et al. A signal-on electrogenerated chemiluminescent biosensor for lead ion based on DNAzyme[J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 683(2): 234-241.
- [16] 潘祖亭,关洪亮,原华平,等. 荧光光谱法在药物分析中的应用[J]. 吉首大学学报: 自然科学版, 2005, 26(3): 27-34.
- [17] 杜黎明,苑戎,王建英. 氧氟沙星荷移络合物的荧光特性和应用[J]. 分析实验室, 2010, 24(7): 13-16.
- [18] 马红燕,陈小利,孙雪花,等. 铁(III)-氧氟沙星-SDS三元体系的荧光特性及应用[J]. 分析科学学报, 2005, 21(2): 161-163.
- [19] 钟惠萍,陈素艳,邓清莲. 铜-氧氟沙星荧光体系测定氧氟沙星[J]. 光谱实验室, 2012, 29(6): 3931-3933.
- [20] 杨惠芬主编. 食品卫生理化检验标准手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 101, 126.