

# 鲁米诺-邻菲罗啉-过氧化氢化学发光体系 检测饮用水中 Pb( )

周敏,滕久委,燕廷,唐书泽\*

(暨南大学 食品科学与工程系,广东 广州 510632)

**摘要:** 采用流动注射与化学发光法相结合,建立 Pb( )催化过氧化氢氧化鲁米诺和邻菲罗啉的化学发光体系,用以检测饮用水中的 Pb( )。通过考察鲁米诺溶液浓度、过氧化氢溶液浓度、邻菲罗啉浓度、铅液 pH 值及缓冲液 pH 值等单因素,选定最初条件,通过正交试验选定最佳条件。结果表明,Pb( )对鲁米诺-邻菲罗啉-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>体系的发光强度有明显增强作用,在选定的最佳条件下,当 Pb( )质量浓度为 1.0×10<sup>-7</sup>~1.0×10<sup>-5</sup> g/mL 时,Pb( )对鲁米诺-邻菲罗啉-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>体系发光强度的促进作用与 Pb( )质量浓度呈现较好的线性关系,利用这一线性关系,可快速测定饮用水中 Pb( )的浓度。

**关键词:** 饮用水;铅;化学发光法;检测

中图分类号: X830.7; X832 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2011)02-0215-05

## Determination of Pb ( II ) in drinking water by luminol-1, 10-phenanthroline-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> chemiluminescence system

ZHOU Min, TENG Jiu-wei, YAN Ting, TANG Shu-ze\*

(Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** Catalytic reaction of luminol-phenanthroline-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> chemiluminescence by Pb( ) was tested by combining flowing-injection and chemiluminescence. Through the single factor experiment about the concentration of luminous, hydrogen peroxide, 1, 10-phenanthroline, the pH value of Pb solution and buffer solutions, the initial was selected and the best condition was designated through orthogonal test. The results showed that Pb( ) enhanced the chemiluminescence intensity of luminol-1,10-phenanthroline-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and the stimulation of Pb( ) had a positive correlation with its concentration in drinking water when its concentration ranged from 1.0×10<sup>-7</sup> g/mL to 1.0×10<sup>-5</sup> g/mL. It proved to be a rapid method to determine the sudden change of Pb( ) in drinking water and to carry out the goal as an early alarming of emergency contamination of Pb( ).

**Key words:** drinking water; Pb( ); chemiluminescence; determination

近年来,城市饮用水突发性重金属污染事件呈上升趋势。1985—2005年,中国城市饮用水发生突发性污染事件 102 起,其中 2001—2005 年有 49 起,平均每年 10 起,而 2006 年一年却发生了 75 起<sup>[1]</sup>,其中重金属是常见的危害源,因此,快速监测饮用水中重金属等有害化学物的突变已成为预防重大

食品安全突发事件发生的重点。

铅检测的常用方法有分子光谱法<sup>[2]</sup>、原子光谱法<sup>[3-4]</sup>和 ICP-AES 法<sup>[5]</sup>。分子光谱法包括分光光度法、荧光光谱法、化学发光法等。分光光度法,由于其设备简单、方法可靠,被列为食品和生物样品中痕量铅分析的国家标准方法。分光光度法常用双

收稿日期: 2010-05-10

基金项目: 广东省人民政府应急管理办公室项目(0815)

作者简介: 周敏(1986—),女,湖南望城人,硕士研究生,主要从事食品安全控制研究; \*通信作者, tangsz@jnu.edu.cn

硫脲和卟啉化合物作为显色剂,灵敏度较高,但操作较繁琐,且氰化物及大量氯仿的使用易造成环境污染<sup>[3]</sup>。近年来,化学发光法<sup>[6-10]</sup>被引入环境监测中,其优点是操作简单、灵敏度高、线性范围宽,采用此法检测食品和其他物质中铅离子已有报道。笔者将流动注射与化学发光法相结合,利用鲁米诺-邻菲罗啉-过氧化氢的反应特点,建立了一种简单、快速,灵敏度高的化学发光体系,以期快速监测饮用水中 Pb(II)的变化。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

Pb(II)标准储备液 100  $\mu\text{g/mL}$ ;鲁米诺(Sigma公司)储备液 $1\times 10^{-2}$  mol/L;邻菲罗啉(广州化学试剂厂,乙醇溶解)储备液 $1\times 10^{-3}$  mol/L;双氧水和硝酸(分析纯,广州化学试剂厂);氢氧化钠(分析纯,

天津市大茂化学试剂厂);盐酸(分析纯,北京化工厂)。样品水取自暨南大学学生宿舍和实验室。

主要仪器为 IFIS-C 型流动注射化学发光仪(西安瑞迈电子科技有限公司);RFL-1 型超微弱化学发光/生物发光检测仪(西安瑞迈分析仪器有限公司)。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 化学发光体系检验 Pb(II) 流程

试验过程如图 1 所示。将碱性鲁米诺溶液与邻菲罗啉的混合液和过氧化氢溶液分别由 b 和 c 通道泵入,经三通阀混合,再与由 a 通道泵入的含 Pb(II) 样品溶液混合,进入反应池反应,产生化学发光信号,由光电倍增管(PMT)检测,信号经放大器放大,进入计算机处理。据此得到最大且重复性较好的发光信号。

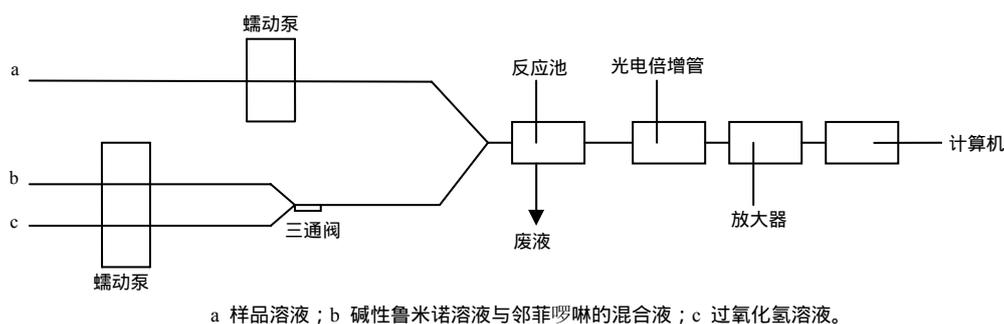


图 1 流动注射化学发光法检测含 Pb(II) 样品溶液

Fig. 1 Schematic flowchart of FI chemiluminescence system for determination of Pb(II) solution

#### 1.2.2 单因素试验

考察鲁米诺浓度( $1\times 10^{-5}$ 、 $3\times 10^{-5}$ 、 $8\times 10^{-5}$ 、 $1\times 10^{-4}$ 、 $3\times 10^{-4}$ 、 $5\times 10^{-4}$ 、 $8\times 10^{-4}$ 、 $1\times 10^{-3}$  mol/L),过氧化氢溶液浓度(0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.1、1.3 mol/L),邻菲罗啉浓度( $0.5\times 10^{-6}$ 、 $1.0\times 10^{-5}$ 、 $1.5\times 10^{-5}$ 、 $2.0\times 10^{-5}$ 、 $2.5\times 10^{-5}$ 、 $3.0\times 10^{-5}$  mol/L),铅液 pH 值(2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5),缓冲液 pH 值(10.5、11、11.5、12、12.5、13)与相对发光强度的关系。

#### 1.2.3 正交试验

根据发光体系单因素试验结果,设计 5 因素 3 水平的正交试验,以期得到发光体系最佳反应条件。

#### 1.2.4 标准曲线制作和精密度及检出限

在选定的最佳试验条件下,测定 Pb(II) 质量浓度在 0.000 1~0.001, 0.002~0.01 mg/mL 的化学发光强度,并制作标准曲线,计算出精密度及检出限。

#### 1.2.5 干扰试验

以 Pb(II) 质量浓度为  $1\times 10^{-7}$  g/mL 时进行干扰试验,干扰允许误差为  $\pm 5.0\%$ ,对选取的干扰样进行测定。

#### 1.2.6 样品分析及回收率试验

向样品水中加入一定量 Pb(II) 标准溶液,使样品中 Pb(II) 含量达到  $1.0\times 10^{-7}$  g/mL,测定其发光信号值并计算回收率。

## 2 结果与分析

### 2.1 鲁米诺浓度对化学发光体系发光强度的影响

随着鲁米诺浓度的增大,其发光体系相对发光强度( $\Delta I$ )不断增大(图2),当鲁米诺浓度为 $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L时,相对发光强度达到近 4 000,但考虑到试剂消耗量大会导致高成本问题,选择 $5.0 \times 10^{-4}$  mol/L 作为鲁米诺的初选浓度。

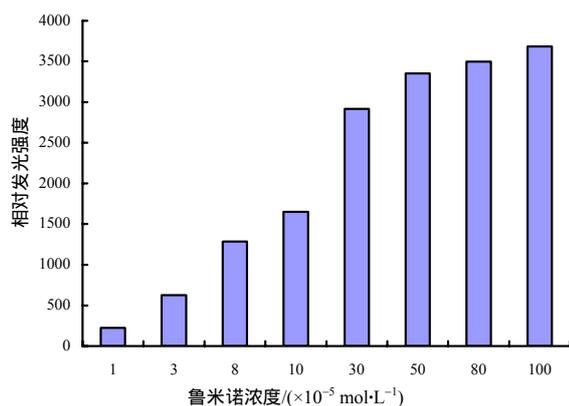


图 2 不同鲁米诺浓度下化学发光体系的发光强度

Fig.2 Luminous intensity of chemiluminescence system under different luminol concentration

### 2.2 过氧化氢浓度对化学发光体系发光强度的影响

过氧化氢浓度变化与化学发光体系发光强度之间的关系见图3。随着过氧化氢浓度的提高,相对发光强度( $\Delta I$ )不断增加,当过氧化氢浓度为0.9 mol/L时,相对发光强度最大,因此,初步选择0.9 mol/L为过氧化氢溶液的最佳浓度。

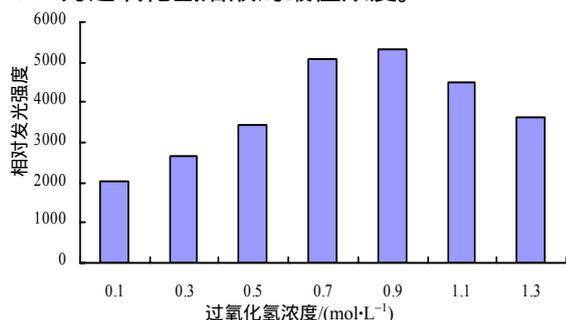


图 3 不同过氧化氢浓度下化学发光体系的发光强度

Fig.3 Luminous intensity of chemiluminescence system under different hydrogen peroxide concentration

### 2.3 邻菲罗啉浓度对化学发光体系发光强度的影响

随着邻菲罗啉浓度的增大,化学发光体系的发光强度呈先增后减趋势(图4)。邻菲罗啉浓度为

$1.5 \times 10^{-5}$  mol/L时,相对发光强度( $\Delta I$ )值最大,因此,选取 $1.5 \times 10^{-5}$  mol/L作为邻菲罗啉发光体系最佳浓度。

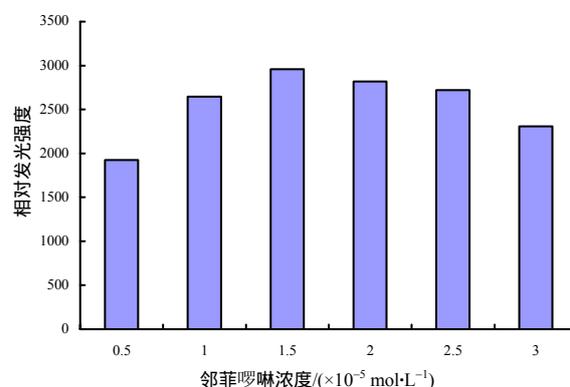


图 4 不同邻菲罗啉浓度下化学发光体系的发光强度

Fig.4 Luminous intensity of chemiluminescence system under different 1,10-phenanthroline concentration

### 2.4 铅溶液 pH 值对化学发光体系发光强度的影响

图5显示,当铅溶液pH值为3时,体系显示最大化学发光值,这是由于鲁米诺的化学发光反应要求在碱性介质中进行,而在碱性介质中Pb(II)会水解成氢氧化物沉淀,因此铅溶液必须保持足够的酸度,以保证二价铅离子的稳定存在,铅溶液pH值为3时化学发光强度( $\Delta I$ )取得最大值,所以初步选定铅溶液的最佳pH值为3。

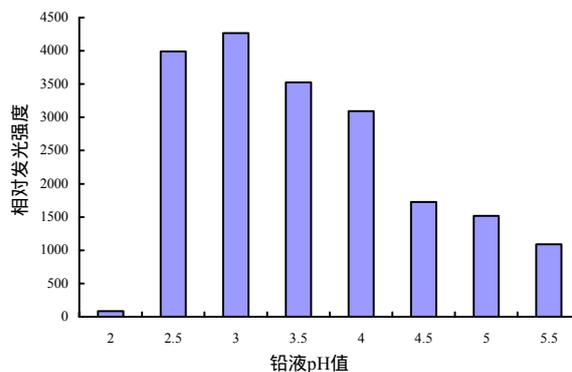


图 5 不同铅溶液 pH 值下化学发光体系的发光强度

Fig.5 Luminous intensity of chemiluminescence system under different pH value of Pb solution

### 2.5 缓冲液 pH 值对化学发光体系发光强度的影响

缓冲液 pH 值对化学发光体系的发光强度的影响见图 6。当缓冲液 pH 值分别为 12.5 和 13.0 时,化学发光体系会产生沉淀,可能是因为 pH 值偏高时, $\text{OH}^-$ 与金属离子结合生成了沉淀。在选定范围

内, pH 值 11.5 时化学发光强度( $\Delta I$ )最大, 因此, 缓冲液 pH 值初步定为 11.5。

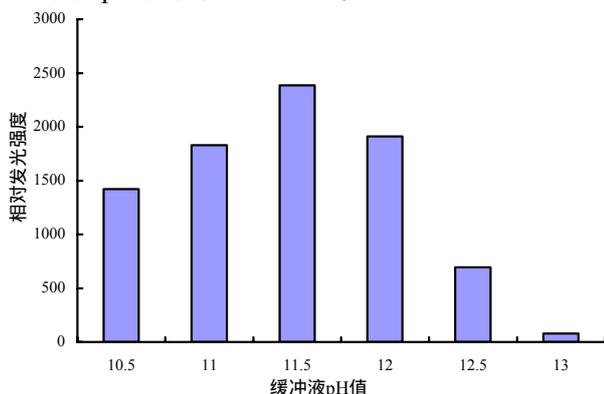


图6 不同缓冲液 pH 值下化学发光体系的发光强度

Fig.6 Luminous intensity of chemiluminescence system under different pH value of buffer solution

## 2.6 正交试验结果

正交试验结果如表 1 所示。将正交试验结果采用正交设计助手 II v3.1 进行分析, 结果见表 2。通过比较  $F$  值, 得出各因素的影响程度大小依次为缓冲液 pH 值、鲁米诺溶液浓度、铅溶液 pH 值、邻菲罗啉浓度和  $H_2O_2$  浓度。通过分析各影响因素水平  $K$  值, 最终确定反应体系的最佳优化组合为  $A_3B_2C_3D_1E_3$ , 即鲁米诺溶液浓度为  $7.0 \times 10^{-4}$  mol/L, 过氧化氢浓度为 0.9 mol/L, 邻菲罗啉浓度为  $2.0 \times 10^{-5}$  mol/L, 铅溶液 pH 值为 3.5, 缓冲液 pH 值为 12.0。

表 1 正交试验结果

Table 1 Test results from orthogonal array design

编号	A	B	C	D	E	相对化学发光强度
1	$3.0 \times 10^{-4}$	0.8	$1.0 \times 10^{-5}$	3.5	11.0	2 636.0
2	$3.0 \times 10^{-4}$	0.9	$1.5 \times 10^{-5}$	3.0	11.5	2 942.9
3	$3.0 \times 10^{-4}$	1.0	$2.0 \times 10^{-5}$	2.5	12.0	10 238.1
4	$5.0 \times 10^{-4}$	0.8	$1.0 \times 10^{-5}$	3.0	11.5	6 051.2
5	$5.0 \times 10^{-4}$	0.9	$1.5 \times 10^{-5}$	2.5	12.0	14 710.6
6	$5.0 \times 10^{-4}$	1.0	$2.0 \times 10^{-5}$	3.5	11.0	7 462.1
7	$7.0 \times 10^{-4}$	0.8	$1.5 \times 10^{-5}$	3.5	12.0	15 245.0
8	$7.0 \times 10^{-4}$	0.9	$2.0 \times 10^{-5}$	3.0	11.0	7 861.6
9	$7.0 \times 10^{-4}$	1.0	$1.0 \times 10^{-5}$	2.5	11.5	4 739.0
10	$3.0 \times 10^{-4}$	0.8	$2.0 \times 10^{-5}$	2.5	11.5	206.0
11	$3.0 \times 10^{-4}$	0.9	$1.0 \times 10^{-5}$	3.5	12.0	9 119.1
12	$3.0 \times 10^{-4}$	1.0	$1.5 \times 10^{-5}$	3.0	11.0	807.0
13	$5.0 \times 10^{-4}$	0.8	$1.5 \times 10^{-5}$	2.5	11.0	348.2
14	$5.0 \times 10^{-4}$	0.9	$2.0 \times 10^{-5}$	3.5	11.5	9 106.5
15	$5.0 \times 10^{-4}$	1.0	$1.0 \times 10^{-5}$	3.0	12.0	9 813.3
16	$7.0 \times 10^{-4}$	0.8	$2.0 \times 10^{-5}$	3.0	12.0	14 051.5
17	$7.0 \times 10^{-4}$	0.9	$1.0 \times 10^{-5}$	2.5	11.0	2 832.0
18	$7.0 \times 10^{-4}$	3.0	$1.5 \times 10^{-5}$	3.5	11.5	11 194.3
$K_1$	4 324.850	6 422.983	5 865.100	9 127.167	3 657.817	
$K_2$	7 915.317	7 762.117	7 541.333	6 921.250	5 706.650	
$K_3$	9 320.567	7 375.633	8 154.300	5 512.317	12 196.267	
极差	4 995.717	1 339.134	2 289.200	3 614.850	8 538.450	

A 鲁米诺溶液浓度(mol/L); B  $H_2O_2$ 浓度(mol/L); C 邻菲罗啉浓度(mol/L); D 铅溶液pH值; E 缓冲液pH值。

表 2 正交试验结果的方差分析

Table 2 Analysis of variance for the orthogonal test

来源	自由度	偏差平方和	$F$
鲁米诺浓度	2	79 646 726.920	1.407
双氧水浓度	2	5 700 378.948	0.075
邻菲罗啉浓度	2	16 851 845.920	0.221
铅溶液pH值	2	39 836 604.000	0.524
缓冲液pH值	2	380 471 497.800	3.133

## 2.7 标准曲线、精密度和检出限及干扰试验结果

在选定的最佳试验条件下, 化学发光体系的发光强度与Pb(II)质量浓度在0.000 1~0.001和0.002~0.01 mg/mL呈良好的线性关系。为了提高测定的准确度, 标准曲线分段绘制。回归方程的基本参数如表3。对0.000 1 mg/mL的Pb(II)进行了11次平行测

定,计算所得的相对标准偏差为1.2%。根据IUPAC建议,计算所得的检出限为 $5.9 \times 10^{-9}$  g/mL。

表3 Pb(II)标准曲线的线性范围及回归方程

Table 3 Linear range and regression equation of the calibration curves of Pb(II)

Pb(II)质量浓度 (mg·mL <sup>-1</sup> )	回归方程	R <sup>2</sup>
0.000 1~0.001	y=190.35x+81.282	0.993 6
0.002 0~0.010	y=56.139x+10.293	0.993 5

通过对选取的干扰样进行测定,Pb(II)质量浓度为 $1.0 \times 10^{-7}$  g/mL时,至少允许1 000倍的K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、NO<sup>3-</sup>共存;等倍量Mn<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Ag<sup>+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>等会催化鲁米诺和过氧化氢的化学发光反应,对测定有干扰,由此可见,该化学发光体系受到一些金属离子的干扰。为提高分析选择性,可以在测定时加入柠檬酸铵络合Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Al<sup>3+</sup>、Fe<sup>2+</sup>等,防止在碱性溶液中形成氢氧化物沉淀;也可以加入少量的EDTA(乙二胺四乙酸二钠)、氰化钾,避免Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>等的干扰。

## 2.8 样品分析结果及回收率

样品测定结果(表4)表明,学生宿舍和实验室水样品未检出Pb(II)。

表4 样品水中Pb(II)含量测定结果(n=5)

Table 4 Content of Pb(II) in tested samples (n=5)

样品	Pb(II)含量	加入量 (g·mL <sup>-1</sup> )	测出量 (g·mL <sup>-1</sup> )	回收率/%
宿舍水	未检出	$1.00 \times 10^{-7}$	$0.94 \times 10^{-7}$	94
实验室水	未检出	$1.00 \times 10^{-7}$	$1.07 \times 10^{-7}$	107

向样品中加入一定量Pb(II)标准溶液,使样品中Pb(II)含量达到 $1.0 \times 10^{-7}$  g/mL,测定其发光信号值,结果,学生宿舍水样品的回收率为94%,实验

室水样品回收率为107%。

## 参考文献:

- [1] 张勇,王东宇,杨凯. 1985—2005年中国城市水源地突发污染事件不完全统计分析[J]. 安全与环境学报, 2008, 6(2): 79-84.
- [2] GB/T 5009.12—2003, 食品卫生检验方法[S].
- [3] 王光健,鲁长豪. 用氢化物发生-原子吸收光谱法测定食品中铅[J]. 华西医科大学学报, 1986, 12(2): 135-138.
- [4] 金劲草,陈恒武,沈学优. 流动注射在线预富集火焰原子吸收法测定水中的痕量铅[J]. 分析化学, 1996, 24(8): 957-960.
- [5] Zougagh M, Vereda Alonso E, Cano Pavón J M. Automatic on line preconcentration and determination of lead in water by ICP-AES using a TS-microcolumn [J]. Talanta, 2004, 27(3): 503-510.
- [6] 吴永平,高智席,王满力. 流动注射化学发光增敏法测定白酒中痕量铅[J]. 酿酒科技, 2007(5): 102-105.
- [7] 朱粉霞,杨德五,张小燕,等. 流动注射化学发光法测定食品营养添加剂中铅[J]. 食品科学, 2003, 24(8): 102-104.
- [8] 唐守渊,徐溢. Luminol-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>化学发光法测定汽油中铅[J]. 理化检验: 化学分册, 2003, 9(1): 25-27.
- [9] 李绍卿,李阳. 化学发光法测定铅的研究及其应用[J]. 中国非金属矿工业导刊, 1999(2): 26-28.
- [10] 李卫华,王占玲,李建中,等. 以偶合反应流动注射化学发光法测定铅[J]. 分析化学, 1998, 26(2): 219-221.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 易来宾