

DOI:10.13331/j.cnki.jhau.2015.05.016
投稿网址: http://xb.ijournal.cn

饮用水中秋水仙碱含量预警的在线监测方法

朱曜^{1,2}, 刘爽, 张旭辉, 唐书泽*

(1.暨南大学食品科学与工程系, 广东 广州 510632; 2.广东省疾病预防控制中心, 广东 广州 510300)

摘要: 为了防止人为或自然因素引起的饮用水秋水仙碱污染事件发生, 探索饮用水中秋水仙碱含量预警的在线监测方法, 对流动注射化学发光法测定秋水仙碱含量的影响因素进行优化, 建立了一套饮用水中秋水仙碱含量预警的在线监测系统。结果表明: 较佳检测条件为泵速 1 mL/min、鲁米诺溶液 pH 13.20、鲁米诺溶液浓度 3.00×10^{-4} mol/L、铁氰化钾溶液浓度 3.00×10^{-4} mol/L。该方法的线性范围为 $5.0 \times 10^{-3} \sim 1.0$ mg/L, 检出限为 3.01×10^{-5} mg/L, RSD 为 2.78% ($n=11$)。所建立的预警在线监测系统具有灵敏度高、操作便利、预警实时等特点, 可用于对饮用水中因人为因素或自然因素引起的有毒物质污染预警的实时监测。

关键词: 饮用水; 秋水仙碱; 预警; 流动注射化学发光法; 在线监测

中图分类号: X131.2; X832 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2015)05-0538-06

On-line monitoring method on emergency warning of colchicine in drinking water using flow-injection chemiluminescence

Zhu Yao, Liu Shuang, Zhang Xuhui, Tang Shuze*

(1. Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangdong 510300, China)

Abstract: In order to prevent the pollution of colchicine for drinking water and explore a method of on-line monitoring and early warning system, the effects of various factors on CL system were optimized, and an on-line monitoring and early warning system for drinking water polluted by colchicine was constructed. The results showed that the optimum condition for colchicine detection were as follows: pump speed was 1 mL/min, the pH value of luminol was 13.20, the concentration of luminol was 3.00×10^{-4} mol/L, the concentration of potassium ferricyanide was 3.00×10^{-4} mol/L. The linear range of this method was $5.0 \times 10^{-3} \sim 1.0$ mg/L with a detection limit of 3.01×10^{-5} mg/L and relative standard deviation of 2.78% ($n=11$). This system could be applied to real-time monitoring and early warning for drinking water polluted by anthropogenic or abiotogenic factors with high sensitivity and good operability.

Keywords: drinking water; colchicine; early warning; flow-injection chemiluminescence; on-line monitoring

近年来发生的突发性引用水污染事件中, 人为饮用水投毒难以被及时发现^[1-2]。建立饮用水有毒有害物质预警的在线检测系统, 及时切断被污染水源, 减少事故损失^[3-4], 对饮用水安全应急管理具有重要意义。秋水仙碱是一种毒性极强的生物碱, LD50 仅为 4 mg/kg^[5], 存在于百合科水仙的球茎、种子以及食品鲜黄花菜中。秋水仙碱中毒事件频频

发生, 如 2004 年扬州大学副教授秋水仙碱投毒案和 2013 年秋水仙碱外遇投毒案, 但因规模较小并未引起足够重视。目前测定秋水仙碱含量的方法很多, 主要有荧光光度法、比色法、薄层色谱扫描法、高效液相色谱法等^[6-8], 但上述方法大都操作复杂, 灵敏度较低, 且必须间断式采集样品进样, 无法实现对饮用水中秋水仙碱的快速检测。近年来, 流动

收稿日期: 2015-04-04

修回日期: 2015-06-01

基金项目: 广东省食品安全应急技术专项(32412099)

作者简介: 朱曜(1991—), 男, 河南郑州人, 硕士, 主要从事食品安全预警研究, jnuszpy@163.com; *通信作者, 唐书泽, 博士, 教授, 主要从事国际食品安全预警研究, tangsz@jnu.edu.cn

注射化学发光法以其仪器简单、灵敏度高、操作方便等优点被广泛应用到食品、药品、环境监测等领域^[9-12]。该方法可连续进样,实时采集饮用水样品检测,故可以对饮用水水质进行在线监测。笔者研究秋水仙碱含量对鲁米诺-铁氰化钾流动注射化学发光体系发光强度的影响^[13-15],采用响应面优化法得到最优的检测条件^[16],并结合在线监测报警技术^[17]建立了一种对饮用水中秋水仙碱预警的方法^[18-20],现将结果报道如下。

1 材料与方 法

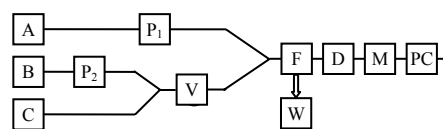
1.1 主要仪器与试剂

主要仪器:IFIS-C 型智能流动注射进样器;RFL-1 型超微弱化学发光/生物发光检测仪(西安瑞迈电子科技有限公司);DHG-9145A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);PHS-3C 数字式 pH 计(上海精密科学仪器有限公司);EL104 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);微量移液枪 0.1~1.0 mL、0~100 μ L(德国 BRAND 公司);超声波仪(西安科导超声波仪器有限公司)。

主要试剂:鲁米诺粉末(Sigma 公司);铁氰化钾(咸阳市化学试剂厂);秋水仙碱(铭旺生物公司);氢氧化钠(分析纯,广州市大茂化学试剂厂);氯化钙(广州市裕达化学试剂厂);乙二胺四乙酸二钠(咸阳化学试剂厂);超纯水。

1.2 进样方法

按图 1 连接整个分析流路,A 通道注入秋水仙碱溶液,B 通道注入鲁米诺溶液,C 通道注入铁氰化钾溶液,其中 B、C 通道溶液先在三通阀处混合,形成具有化学发光效果的鲁米诺-铁氰化钾体系,再与 A 通道溶液混合,进入反应池 F 中反应,废液进入废液池 W。反应所产生化学发光信号由检测仪检测,通过光电倍增管 D 将光信号转变为电信号,并在放大器中放大,变化的电流连接报警装置 M,进行实时报警,并最终由计算机软件呈现出峰线图。



A 待测试剂;B 鲁米诺;C 铁氰化钾;P₁、P₂ 蠕动泵;V 三通阀;F 反应池;W 废液池;D 光电倍增管;M 报警器;PC 计算机。

图 1 在线监测预警示意图

Fig.1 Chart of the FL-CL on-line monitoring and early warning system

1.3 反应机理分析

通过试验分析秋水仙碱-鲁米诺-铁氰化钾化学发光体系的作用机理。

1.4 检测条件的优先

1.4.1 单因素试验

分别考察秋水仙碱溶液质量浓度 0.05 mg/L 时泵速、鲁米诺溶液 pH,鲁米诺溶液浓度、铁氰化钾溶液浓度对相对化学发光强度的影响。

1) 鲁米诺溶液 pH 为 13.00、鲁米诺溶液浓度 2×10^{-4} mol/L、铁氰化钾溶液浓度 2×10^{-4} mol/L 保持不变,改变泵速,比较泵速分别为 0.8、1.0、1.20、1.40、1.60 mL/min 时的相对化学发光强度。

2) 泵速 1.0 mL/min、鲁米诺溶液浓度 2×10^{-4} mol/L、铁氰化钾溶液浓度 2×10^{-4} mol/L 保持不变,改变鲁米诺 pH,比较鲁米诺 pH 分别为 12.20、12.60、13.00、13.40、13.80 时的相对化学发光强度。

3) 泵速 1.0 mL/min、鲁米诺溶液 pH 为 13.00、铁氰化钾溶液浓度 2×10^{-4} mol/L 保持不变,改变鲁米诺浓度,比较鲁米诺浓度分别为 0.5×10^{-4} 、 1.0×10^{-4} 、 2.0×10^{-4} 、 3.0×10^{-4} 、 4.0×10^{-4} mol/L 时的相对化学发光强度。

4) 泵速 1.0 mL/min、鲁米诺溶液 pH 为 13.00、鲁米诺溶液浓度 2×10^{-4} mol/L 保持不变,改变铁氰化钾溶液浓度,比较铁氰化钾溶液浓度分别为 0.5×10^{-4} 、 1.0×10^{-4} 、 2.0×10^{-4} 、 3.0×10^{-4} 、 4.0×10^{-4} mol/L 时的相对化学发光强度。

1.4.2 响应面优化检测试验

根据 Box-Behnken 中心组合设计原理,进行四因素三水平(表 1)响应面优化检测试验,并用 Design Expert 8.0 软件对试验数据进行回归分析。

表 1 响应面优化检测试验的因素和水平
Table 1 Factors and levels of response surface design

水平	因素			
	A (泵速/(mL·min ⁻¹))	B (鲁米诺溶液 pH)	C (鲁米诺浓度(×10 ⁻⁴ mol·L ⁻¹))	D (铁氰化钾浓度×10 ⁻⁴ (mol·L ⁻¹))
-1	1.0	12.2	0.50	0.50
0	4.5	13.0	2.25	2.25
1	8.0	13.8	4.00	4.00

1.4.3 标准曲线的绘制和精密度及检出限的确定

采用梯度稀释法, 配制 0.005、0.010、0.050、0.100、0.500、1.000 mg/L 的秋水仙碱溶液, 在优化后的试验条件下, 测定相对化学发光强度。以秋水仙碱浓度为横坐标, 以相对化学发光强度为纵坐标绘制标准曲线, 并计算精密度和检出限。

1.4.4 干扰试验和加标回收

在优化试验条件下进行干扰影响试验, 秋水仙碱质量浓度为 0.05 mg/L, 加入常见的干扰离子, 观测化学相对发光强度变化。

在优化后的试验条件下, 测定实验室自来水、宿舍自来水、怡宝纯净水中秋水仙碱含量, 之后进行秋水仙碱 0.05 mg/L 的加标回收试验。

1.5 报警系统原理图设计

为了对突发事件进行在线实时预警, 在监测系统中加入报警器来提醒检测人员, 以便从理论上设计出一套相对完整的检测报警系统。

2 结果与分析

2.1 反应机理

试验结果表明, 75 s 时在鲁米诺-铁氰化钾体系中注入 0.05 mg/L 的秋水仙碱溶液对发光强度有明显抑制作用, 其抑制程度即相对化学发光强度与秋水仙碱溶液浓度呈正相关关系。体系的反应机理可能是鲁米诺被铁氰化钾氧化成为激发态的 3-氨基邻苯二甲酸根阴离子, 其化学发光的最大波长为 425 nm。同时秋水仙碱是一种有机胺类生物碱, 可被铁氰化钾氧化, 与鲁米诺产生竞争性抑制, 从而抑制了体系的化学发光强度。

2.2 检测条件的优化结果

2.2.1 单因素试验结果

1) 泵速的选取。当体系的流动注射速率一定时, 在较低浓度范围内, 载流泵速和相对化学发光强度成正相关, 在泵速超过 1.00 mL/min 时相对发光强度最大; 当泵速较高时, 相对化学发光强度降低并趋于稳定, 故选取泵速为 1.00 mL/min。

2) 鲁米诺溶液 pH 的选取。在碱性环境中鲁米诺溶液有较好的化学发光特性, 随着 pH 的升高, 相对化学发光强度不断增强, 在 pH 为 13.00 时相对发光强度最大, 之后随着 pH 的升高相对发光强度下降, 故选取鲁米诺 pH 为 13.00。

3) 鲁米诺溶液浓度的选取。鲁米诺溶液浓度较低时相对化学发光强度较弱, 当浓度达到 2×10^{-4} mol/L 时, 相对发光强度显著增高, 之后随着浓度的升高, 发光强度呈降低的趋势, 故选取鲁米诺溶液浓度为 2×10^{-4} mol/L。

4) 铁氰化钾溶液浓度的选取。铁氰化钾溶液浓度增大时, 相对化学发光强度也随之增强, 在浓度为 2×10^{-4} mol/L 时化学发光强度最大, 随后随着浓度的增大, 相对化学发光强度趋于平稳。考虑到成本因素, 确定铁氰化钾溶液浓度为 2×10^{-4} mol/L。

2.2.2 响应面试验结果

根据中心复合模型, 采用 29 个试验点(5 个中心点)进行响应面分析试验, 其中共有 24 个析因点, 自变量取值在各因素构成的三维顶点; 5 个重复零点是区域的中心点, 用以估计试验误差, 响应值是相对发光强度(表 2)。相对发光强度(y)和各因素变量(x_1 、 x_2 、 x_3 、 x_4 分别表示因素 A、B、C、D)的二次回归方程为: $y=610.40-47.33x_1+64.50x_2+76.67x_3+16.67x_4+15.25x_1x_2-15.75x_1x_3-17.50x_1x_4+74.25x_2x_3-23.00x_2x_4+6.50x_3x_4-38.41x_1^2-170.66x_2^2-113.41x_3^2-73.41x_4^2$ 。

表 2 响应面法试验结果

Table 2 Results of response surface experiment

试验号	A	B	C	D	相对发光强度	试验号	A	B	C	D	相对发光强度
1	-1	1	0	0	548	16	0	0	1	-1	437
2	0	-1	-1	0	210	17	0	1	1	0	590
3	-1	0	1	0	603	18	-1	0	0	1	601
4	0	1	-1	0	200	19	0	-1	0	-1	340
5	1	0	0	-1	430	20	0	0	-1	1	434
6	0	0	1	1	513	21	1	-1	0	0	261
7	1	0	-1	0	310	22	1	0	0	1	491
8	0	0	0	0	620	23	0	-1	1	0	303
9	0	1	0	-1	416	24	0	-1	0	1	327
10	0	1	0	1	311	25	0	0	0	0	604
11	-1	0	-1	0	419	26	-1	-1	0	0	360
12	0	0	0	0	635	27	1	1	0	0	510
13	1	0	1	0	431	28	-1	0	0	-1	470
14	0	0	-1	-1	384	29	0	0	0	0	611
15	0	0	0	0	582						

2.2.3 回归方程的显著性检验

从表 3 可以看出，回归方程的失拟项较小，说明该方程对试验拟合情况较好，误差小，所以，可以用该回归方程代替试验真实点对结果进行预测

和分析。由表 3 还可以看出，鲁米诺溶液浓度(x_3)、鲁米诺溶液 pH(x_2)、泵速(x_1)、铁氰化钾溶液浓度(x_4)对相对发光强度的影响依次减小。

表 3 回归方程的方差分析结果

Fig.3 Results of variance analysis from regression equation

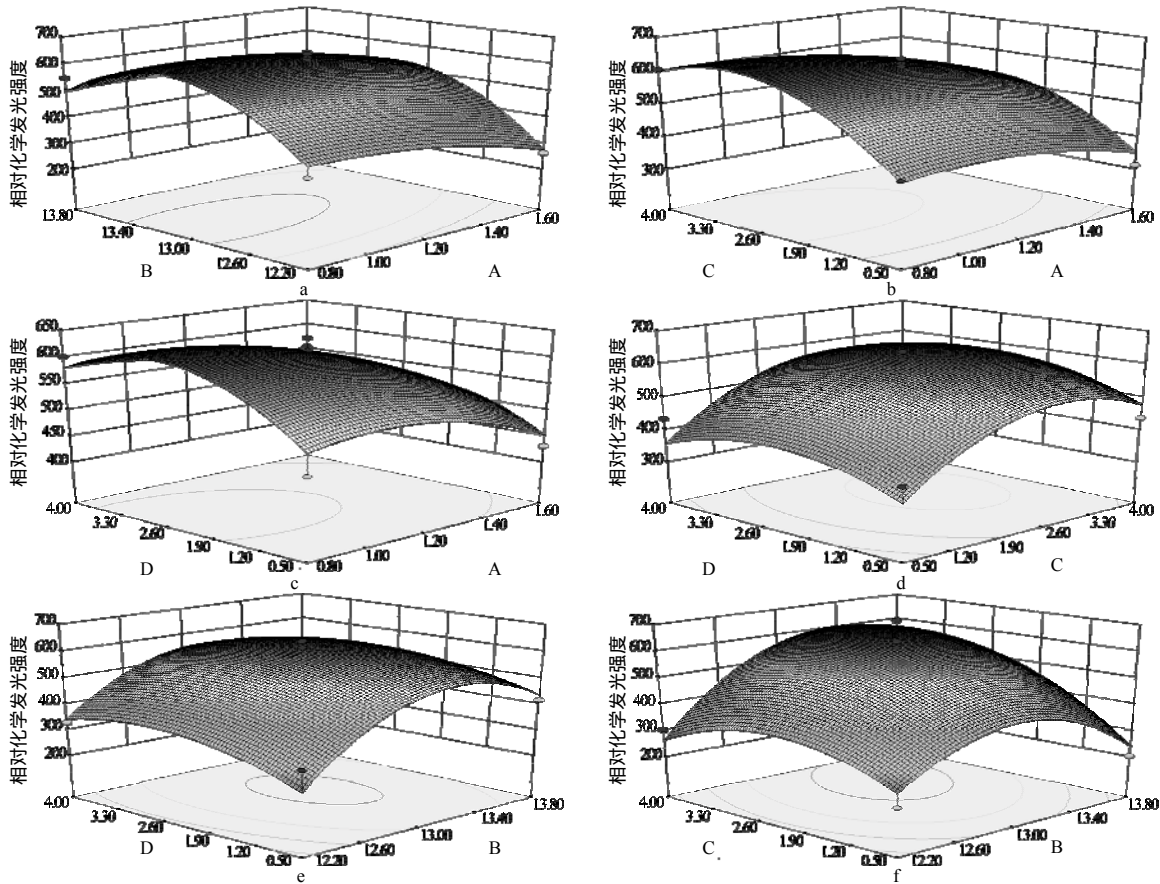
方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值	显著性
模型	14	418 000.00	29 831.29	7.38	0.000 3	**
x_1	1	26 885.33	26 885.33	6.65	0.021 9	*
x_2	1	49 923.00	49 923.00	12.35	0.003 4	**
x_3	1	70 533.33	70 533.33	17.44	0.000 9	**
x_4	1	3 333.33	3 333.33	0.82	0.379 3	
$x_1 x_2$	1	930.25	930.25	0.23	0.638 9	
$x_1 x_3$	1	992.25	992.25	0.25	0.628 0	
$x_1 x_4$	1	1 225.00	1 225.00	0.30	0.590 7	
$x_2 x_3$	1	22 052.25	22 052.25	5.45	0.034 9	*
$x_2 x_4$	1	2 116.00	2 116.00	0.52	0.481 4	
$x_3 x_4$	1	169.00	169.00	0.04	0.841 0	
x_1^2	1	9 568.87	9 568.87	2.37	0.146 3	
x_2^2	1	189 000.00	189 000.00	46.72	< 0.000 1	**
x_3^2	1	83 425.62	83 425.62	20.63	0.000 5	**
x_4^2	1	34 954.27	34 954.27	8.64	0.010 8	*
总残差	14	56 613.03	4 043.79			
失拟误差	10	55 067.83	5 506.78	14.26	0.010 4	*
纯误差	4	1 545.20	386.30			
总和	28	474 000.00				

“**”示 $P < 0.01$ ；“*”示 $P < 0.05$ 。

2.2.4 响应面法分析结果

由图 2 可知：鲁米诺溶液浓度对相对化学发光强度的影响最大，表现为曲面弯折度较大；其次为鲁米诺溶液 pH，再次为泵速，而铁氰化钾溶液浓

度对结果的影响不明显，表现为曲面较为平滑，其中，图 f 的曲面最陡，表明鲁米诺溶液 pH 和鲁米诺溶液浓度的交互作用对结果的影响最大。



A 泵速; B 鲁米诺溶液 pH; C 鲁米诺溶液浓度; D 铁氰化钾溶液浓度。

图 2 4 因素交互作用的响应面分析结果

Table 2 Results of response surface analysis from the interactive effects among four factors

2.2.5 最优检测条件的预测与验证

根据以上结果,结合软件最优化预测功能,预测得到秋水仙碱的最优检测条件:泵速 0.92 mL/min;鲁米诺溶液 pH 13.20;鲁米诺溶液浓度 3.08×10^{-4} mol/L;铁氰化钾溶液浓度 2.56×10^{-4} mol/L;相对发光强度为 654.735。

根据结果进行验证试验,检验试验结果是否与真实情况相一致。综合考虑实际条件后对最佳工艺条件进行修正:泵速 1 mL/min;鲁米诺溶液 pH 13.20;鲁米诺溶液浓度 3.00×10^{-4} mol/L;铁氰化钾溶液浓度 3.00×10^{-4} mol/L。3 次平行试验的相对化学发光强度平均值为 645.580,相对误差较理论最优值偏低 1.3%,重复性好,说明优化结果可信。

2.2.6 标准曲线和精密度及检出限

秋水仙碱质量浓度为 0.005~0.050 mg/L 和 0.05~1.00 mg/L 时 秋水仙碱浓度和相对化学发光强度呈较好的线性关系,其回归方程分别为 $y=3\ 044.3x+198.05$ ($R^2=0.994\ 7$)和 $y=304.96x+334.82$ ($R^2=0.997\ 8$)。对 0.05 mg/L 的试样进行 11 次平行测定,测出相对标准偏差为 2.78%。根据 IUPAC 的相关规定,计算检出限为 3.01×10^{-5} mg/L。

2.2.7 干扰掩蔽试验和加标回收试验结果

干扰允许限为±5%时,1 000 倍的 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 PO_4^{3-} 、 NO_3^- 对试验无干扰;4 倍的 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 和 1 倍的 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 对发光体系有略微促进作用。通过加入体积分数 2.5%的 0.2 mol/L 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)对其掩蔽,掩蔽效果良好(表 4)。

表 4 饮用水秋水仙碱 0.05 mg/L 的加标回收试验结果

Table 4 Colchicine detection with 0.05 mg/L standard addition in drinking water

样品	秋水仙碱含量	加标量/(mg·L ⁻¹)	回收量/(mg·L ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
实验室自来水	—	5.00×10^{-2}	4.86×10^{-2}	97.2	1.15
宿舍自来水	—	5.00×10^{-2}	4.75×10^{-2}	95.0	1.02
怡宝桶装水	—	5.00×10^{-2}	4.82×10^{-2}	96.4	1.21

2.3 报警系统工作原理

报警器与流动注射化学发光法仪的光电倍增管相连, 当检测到引起相对化学发光强度变化的物质时, 荧

光信号会在光电倍增管中转化成变化的电流信号, 进而通过比较电路转化为相应的电压差, 这种电压差通过单态触发器和多谐振荡器使报警器工作(图 4)。

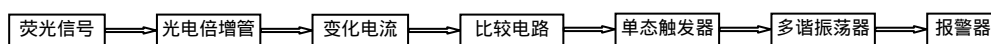


图 3 报警器工作原理

Fig. 3 Operating principle of the alarm apparatus

3 结论

利用秋水仙碱能显著抑制鲁米诺-铁氰化钾化学发光体系发光的特点, 建立了一种在线饮用水中秋水仙碱预警的方法, 该方法经响应面法优化后, 检出限可达 3.01×10^{-5} mg/L, 线性范围为 0.005~0.05 mg/L 和 0.05~1.00 mg/L。本方法具有灵敏度高、操作方便、实时预警等特点, 能够及时测出饮用水中秋水仙碱含量并报警, 从而可避免大规模饮用水安全事故的发生。

参考文献:

- [1] Ciere S, Herrman J, Kuiper H. Food plant toxicants and safety: Risk assessment and regulation of inherent toxicants in plant foods[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 1998, 5(3): 155-172.
- [2] Yang Z, Xi F, Ren T. The effects of residual chlorine on the behavioural responses of daphnia magna in the early warning of drinking water accidental events[J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2012, 25(13): 71-79.
- [3] Bae M, Park Y. Biological early warning system based on the responses of aquatic organisms to disturbances: A review[J]. *Science of The Total Environment*, 2014, 466: 635-649.
- [4] Ibrahim F, Huang B, Xing J. Early determination of toxicant concentration in water supply using MHE[J]. *Water Research*, 2010, 44(10): 3252-3260.
- [5] Atasver A, Yaman D. The effects of grape seed and colchicine on carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats[J]. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2014, 66(8): 361-365.
- [6] Zhang H. Electrochemistry and voltammetric determination of colchicine using an acetylene black-dihexadecyl hydrogen phosphate composite film modified glassy carbon electrode[J]. *Bioelectrochemistry*, 2006, 68(2): 197-201.
- [7] Watterson J, Imfeld A, Cornthwaite H. Determination of colchicine and O-demethylated metabolites in decomposed skeletal tissues by microwave assisted extraction, microplate solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography (MAE-MPSPE-UHPLC)[J]. *Journal of Chromatography B*, 2014, 960: 145-150.
- [8] Bodoki E, Oprean R, Vlase L. Fast determination of colchicine by TLC-densitometry from pharmaceuticals and vegetal extracts[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005, 37(5): 971-977.
- [9] 慕苗, 张琰图, 齐广才, 等. 纳米金催化鲁米诺化学发光体系测定甲疏咪唑[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(5): 557-560.
- [10] 熊海涛, 唐志华, 聂峰, 等. 流动注射化学发光法测定片剂甲氧氯普胺[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(2): 244-248.
- [11] Huang Y, Liu W. Flow-injection chemiluminescence determination of phentolamine based on its enhancing effect on the luminal-potassium ferricyanide system[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005, 38(3): 537-542.
- [12] Liu H, Zhang L, Zhou J. Flow injection chemiluminescence determination of dobutamine hydrochloride injection using luminal-ferricyanide/ferrocyanide system[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 541(1): 123-127.
- [13] 王珏, 屈建莹, 朱莉莉, 等. 流动注射化学发光法测定头孢他啶[J]. *分析测试学报*, 2011, 29(1): 91-94.
- [14] Zhang Z, Zhang X, Fu Z. Flow-injection inhibition chemiluminescence determination of indapamide based on luminal-ferricyanide reaction[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004, 35(1): 1-7.
- [15] 荆海燕, 吕家根. 流动注射化学发光法测定秋水仙碱[J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2008, 30(11): 50-53.
- [16] 刘新, 陈卫中, 韩琴. 响应面法优化超声波辅助提取芒果核中原花青素的研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(3): 227-231.
- [17] 于爽, 管敏杰. 一种新型光电报警器的设计[J]. *科技信息*, 2011, 29(20): 142-143.
- [18] 周华, 魏金凤, 周艳梅, 等. 鲁米诺-铁氰化钾化学发光体系对盐酸环丙沙星的测定[J]. *分析测试学报*, 2010, 29(3): 313-315.
- [19] 马强, 朱定波, 杨杏芳. 鲁米诺-铁氰化钾流动注射化学发光体系测定饮用水中棒曲霉素[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(15): 306-308.
- [20] 朱定波, 马强, 燕廷. 鲁米诺-铁氰化钾流动注射化学发光体系测定饮用水中 α -茄碱[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(22): 84-86.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 王 库