

# N-溴代琥珀酰亚胺-二氯荧光素化学发光体系 测定废水中5-磺基水杨酸

樊雪梅\* 王书民 李倩 王香婷 王宪生 陈凤英

(商洛学院化学与化学工程系 商洛 726000)

**摘 要** 建立了测定5-磺基水杨酸的流动注射化学发光新方法。研究了影响化学发光强度的因素,并初步探讨了可能的发光机理。在最佳化学发光条件下,化学发光强度与5-磺基水杨酸浓度在 $5.0 \times 10^{-8} \sim 2.0 \times 10^{-5}$  mol/L范围内呈良好的线性关系,检出限为 $1.0 \times 10^{-8}$  mol/L,对 $5.0 \times 10^{-6}$  mol/L的5-磺基水杨酸平行测定9次,其相对标准偏差为2.7%。该法可用于强力霉素废水中5-磺基水杨酸的测定。

**关键词** 流动注射,化学发光,二氯荧光素,磺基水杨酸

中图分类号:O657.2

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2013)04-0469-05

DOI:10.3724/SP.J.1095.2013.20246

5-磺基水杨酸是一种重要的芳香族衍生物,常用作合成染料、催化剂和强力霉素的中间体,难以生物降解,是强力霉素废水的主要污染物之一<sup>[1]</sup>。因此,废水中5-磺基水杨酸的分析测定具有重要意义。目前,测定5-磺基水杨酸的方法有滴定法<sup>[2]</sup>、电化学法<sup>[3]</sup>和分光光度法<sup>[4-5]</sup>等。但这些方法存在灵敏度低、试剂消耗量大、操作繁琐等不足<sup>[6]</sup>。近年来,化学发光分析法由于其灵敏度高、分析速度快、方法简便等特点,越来越受到人们的青睐<sup>[7-8]</sup>。但目前利用化学发光法测定5-磺基水杨酸的报道非常少<sup>[9]</sup>。

自化学发光技术发展以来,应用较为广泛的有鲁米诺体系<sup>[10-11]</sup>、高锰酸钾体系<sup>[12]</sup>、N-溴代琥珀酰亚胺(NBS)或N-氯代琥珀酰亚胺(NCS)等体系<sup>[13-14]</sup>。吴雄志等<sup>[9]</sup>研究5-磺基水杨酸在高锰酸钾体系中的发光行为<sup>[9]</sup>。但利用NBS(或NCS)体系测定5-磺基水杨酸还未见报道。本文在碱性条件下,用NBS氧化5-磺基水杨酸,在二氯荧光素作为能量转移剂的条件下产生化学发光,据此,建立了测定5-磺基水杨酸的流动注射化学发光新方法。该方法操作简单、灵敏度高以及选择性好,可用于强力霉素废水中5-磺基水杨酸的测定。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

IFFM-E型流动注射化学发光分析仪(西安瑞迈电子科技有限公司);F4600型荧光分光光度计(日本日立公司)。 $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L 5-磺基水杨酸(海天齐生物科技有限公司)溶液:准确称取0.0257 g 5-磺基水杨酸,用蒸馏水定容至100 mL,使用时逐级稀释; $0.025$  mol/L NBS(国药集团化学试剂有限公司)溶液:准确称取0.4449 g NBS,加水溶解并定容至100 mL容量瓶中,使用时当天配制。 $1.0 \times 10^{-2}$  mol/L二氯荧光素(北京化学试剂厂)储备液:称取2.0 g二氯荧光素,加入10 mL 0.05 mol/L的NaOH溶解,用水定容至500 mL。使用时用0.05 mol/L NaOH稀释至 $4.2 \times 10^{-5}$  mol/L。NaOH溶液:0.02 mol/L。所用试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

### 1.2 实验方法

图1为实验流程图。其中管路为内径0.8 mm的聚四氟乙烯管(PTFE),光电倍增管负高压为

600 V, 增益为  $l$ 。由图 1 可知, 首先, 将碱性 NBS 与一定浓度的 5-磺基水杨酸标准溶液或样品溶液混合, 最后, 将混合液注入二氯荧光素的载流中, 记录发光信号, 以峰高定量。

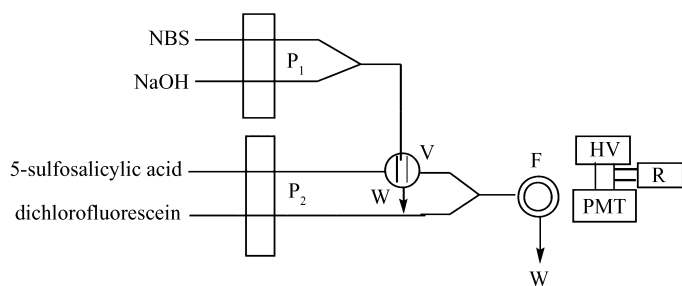


图 1 流动注射化学发光分析流程图

Fig. 1 Schematic diagram for the flow-injection chemiluminescence analysis

P: peristaltic pump; V: six-way valve; F: flow cell; PMT: photomultiplier; HV: high voltage; W: waste; R: recorder

## 2 结果与讨论

### 2.1 化学发光动力学曲线

用 IFFM-E 的静态系统研究了 NBS-NaOH-二氯荧光素-5-磺基水杨酸的化学发光动力学曲线, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, 当将 5-磺基水杨酸注入碱性 NBS 溶液中时, 无发光现象, 继续注入二氯荧光素可产生化学发光, 从开始出现发光到化学发光强度最大值约 2.5 s, 7.5 s 后发光强度衰减至本底附近。

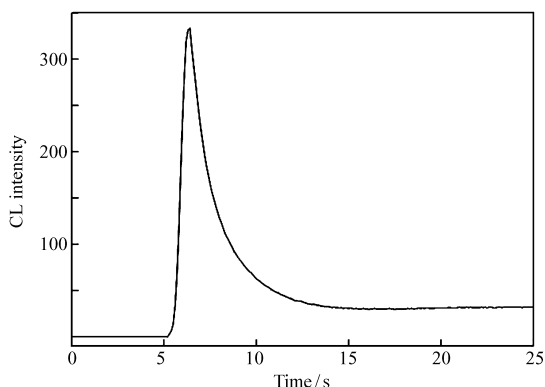


图 2 化学发光动力学曲线

Fig. 2 Kinetic curve of the chemiluminescence

$c(\text{NBS}) = 2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ;  $c(\text{NaOH}) = 0.02 \text{ mol/L}$ ;  
 $c(\text{dichlorofluorescein}) = 4.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ ;  
 $c(5\text{-sulfosalicylic acid}) = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$

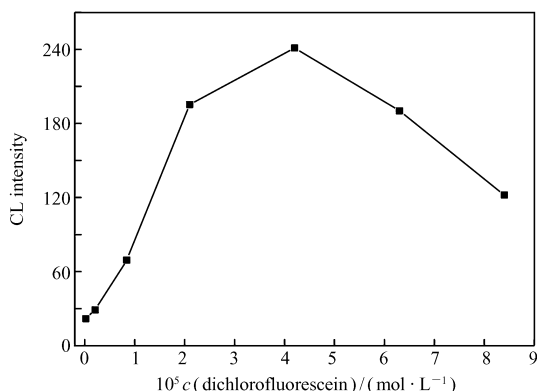


图 3 二氯荧光素浓度对化学发光强度的影响

Fig. 3 Effect of the dichlorofluorescein concentration on the CL intensity

$c(\text{NBS}) = 2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ;  $c(\text{NaOH}) = 0.02 \text{ mol/L}$ ;  
 $c(5\text{-sulfosalicylic acid}) = 3.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$

### 2.2 实验条件的选择

**2.2.1 荧光物种类及浓度的影响** 分别以 8-羟基喹啉 ( $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ )、核黄素 ( $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ )、罗丹明 B ( $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ )、罗丹明 6G ( $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ )、荧光素 ( $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ )、荧光素钠 ( $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ) 和二氯荧光素 ( $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ) 为能量转移剂, 研究了其对发光强度的影响。结果表明, 当以二氯荧光素为能量转移剂时, 发光强度最大。故选择二氯荧光素为能量转移剂。图 3 为二氯荧光素浓度对发光强度的影响。由图 3 可知, 当二氯荧光素浓度达到  $4.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  时, 发光强度最大, 故选择  $4.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  二氯荧光素进行后续实验。

**2.2.2 NaOH 浓度的影响** 图 4 为在 0.01 ~ 1 mol/L 范围内 NaOH 浓度对化学发光信号的影响曲线。由图 4 可知, 当 NaOH 浓度为 0.02 mol/L 时, 体系的化学发光信号最大, 故选 0.02 mol/L NaOH 用于后续实验。

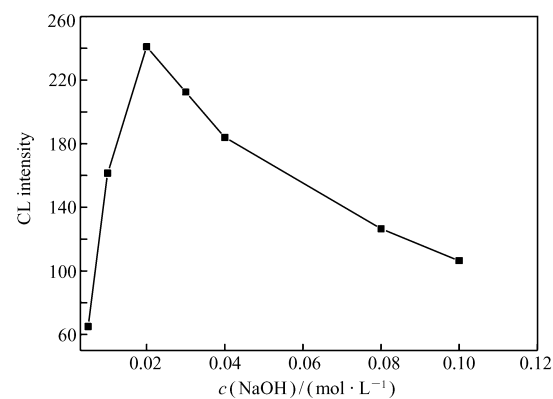


图4 NaOH 浓度对化学发光强度的影响

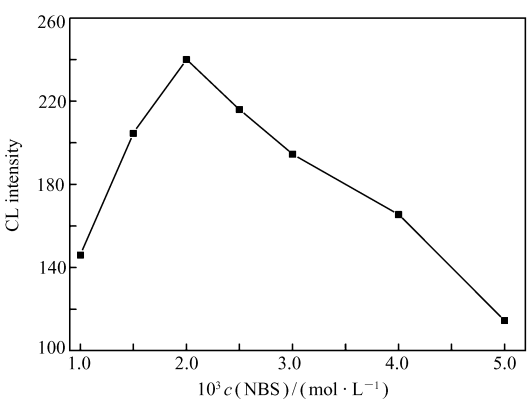


图5 NBS 浓度对化学发光强度的影响

Fig.4 Effect of the NaOH concentration on the CL intensity  
 $c(\text{NBS}) = 2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ;  $c(\text{dichlorofluorescein}) = 4.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ ;  $c(5\text{-sulfosalicylic acid}) = 3.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$

Fig.5 Effect of the NBS concentration on the CL intensity  
 $c(\text{NaOH}) = 0.02 \text{ mol/L}$ ;  $c(\text{dichlorofluorescein}) = 4.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ ;  $c(5\text{-sulfosalicylic acid}) = 3.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$

2.2.3 NBS 的影响 本文 NBS 是化学发光反应中的氧化剂,其浓度的大小直接影响化学发光强度,图 5 为 $5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  范围内 NBS 浓度对化学发光强度的影响。由图 5 可知,当 NBS 的浓度增大时,发光强度也增大,但浓度过大时,发光强度反而下降。当 NBS 浓度为 $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  时,发光强度最大,故实验中选择 NBS 的浓度为 $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 。

2.2.4 表面活性剂的影响

研究表明,表面活性剂吐温-40(中性)、十六烷基三甲基溴化铵(阳性)和十二烷基磺酸钠(阴性)均对化学发光强度有不同程度的抑制作用,故本实验不使用任何表面活性剂。

2.3 干扰试验

在优化实验条件下,选择强力霉素废水中可能含有的物质进行干扰实验。对于 $6.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  5-磺基水杨酸,当相对标准偏差小于 $\pm 5\%$ 时,800 倍的 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{F}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 和 $\text{NO}_3^-$ ;500 倍的 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 和 $\text{Sn}^{2+}$ ;100 倍的 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Ag}^+$ 和 $\text{Ca}^{2+}$ 不干扰测定;50 倍的 $\text{Fe}^{2+}$ 、甲醇和乙醇对该体系产生负干扰。本文通过加热除去甲醇和乙醇;加入少量 EDTA(乙二胺四乙酸二钠)溶液除去 $\text{Fe}^{2+}$ 。

2.4 工作曲线、精密度和检出限

在上述最佳条件下,5-磺基水杨酸浓度与发光强度  $I$  在 $5.0 \times 10^{-8} \sim 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  范围内呈良好的线性关系,线性回归方程为 $I = 9.42 + 87.65 \times 10^6 c$ ,相关系数为 0.997,检出限为 $1.0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ ,对 $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  5-磺基水杨酸标准溶液平行测定 9 次,相对标准偏差为 2.7%。

2.5 样品分析

取某制药厂强力霉素废水样 1.00 mL,用蒸馏水将其稀释 1000 倍。然后分别移取 0.5、1 和 3 mL 并稀释到 10 mL 的容量瓶中,分别作为样品 A、B 和 C。按实验方法测定其中 5-磺基水杨酸的含量,同时,用标准加入法进行回收率实验,其相对标准偏差为 2.6%~3.3%,加标回收率为 98.7%~104.0%,结果令人满意。

表 1 样品测定和回收率试验结果 ( $n = 6$ )

Table 1 Determination results of samples

| Sample | $10^6 \text{ Measured}/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ | RSD/% | $10^6 \text{ Added}/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ | $10^6 \text{ Found}/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ | RSD/% | Recovered/% |
|--------|----------------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------|-------------|
| A      | 1.61                                                     | 2.6   | 3.00                                                  | 4.57                                                  | 3.2   | 98.7        |
| B      | 3.06                                                     | 3.3   | 3.00                                                  | 6.04                                                  | 2.7   | 99.3        |
| C      | 4.45                                                     | 2.9   | 3.00                                                  | 7.57                                                  | 2.9   | 104.0       |

## 2.6 发光机理探讨

分别用 400、425、450、475、500、525、550、575、600 和 625 nm 滤光片测定了 NBS-NaOH-二氯荧光素-5-磺基水杨酸体系的发光强度,发现其在 525 nm 处发光强度最大,与二氯荧光素的荧光发射波长一致(图 6),表明其发光体为二氯荧光素。参考文献[15-18],我们认为,碱性条件下,NBS 水解生成具有氧化性的  $\text{HBrO}$ ,其可以氧化 5-磺基水杨酸,所产生的能量激发共存的二氯荧光素,当激发态的二氯荧光素回到基态时产生化学发光。

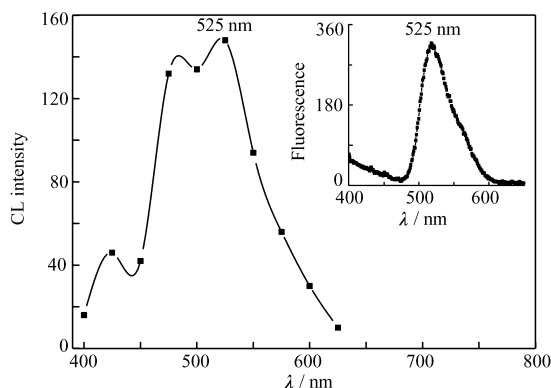
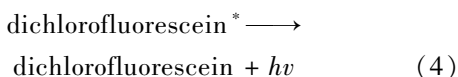
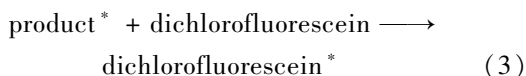
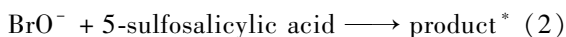


图6 化学发光及荧光(插图)光谱

Fig. 6 CL and fluorescence(inset) spectra

$c(\text{dichlorofluorescein}) = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ ; inset:  $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L NBS} + 0.02 \text{ mol/L NaOH} + 4.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L dichlorofluorescein} + 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L 5-sulfosalicylic acid}$

## 3 结 论

基于在碱性介质中,NBS 氧化 5-磺基水杨酸,在能量转移剂二氯荧光素存在的情况下,产生化学发光,发光强度与 5-磺基水杨酸浓度在一定范围内成正比关系,建立了一种测定 5-磺基水杨酸的流动注射化学发光新方法。该法操作简单且灵敏度高,用于强力霉素废水中 5-磺基水杨酸的测定,结果令人满意。

## 参 考 文 献

- [1] WANG Jusi,ZHAO Lihui,KUANG Xin,*et al.* Biodegradation of Some Aromatic Compounds[J]. *Acta Sci Circumst*,1995,**15**(9):407-410(in Chinese).  
王菊思,赵丽辉,匡欣,等. 某些芳香化合物生物降解性研究[J]. *环境科学学报*,1995,**15**(9):407-410.
- [2] Ministry of Health of the People's Republic of China Pharmacopoeia Commission. The Pharmacopoeia of the People's Republic of China[M]. Beijing,People's Medical Publishing,1990:54-59(in Chinese).  
中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典第二部[M]. 北京:人民卫生出版社,1990:54-59.
- [3] Shahrokhian S,Taghani A,Hamzehloei A. Potentiometric Membrane Sensors Based on Zirconyl(IV) Phthalocyanine for Detection of Sulfosalicylic Acid[J]. *Talanta*,2004,**63**(29):371-376.
- [4] Dong F Q,Wu H L. Determination of Sulfosalicylic Acid[J]. *Plat Finish*,1999,**12**(21):35-37.
- [5] ZHANG Ling,LI Deliang,CUI Jiehu,*et al.* Simultaneous Determination of Sulfosalicylic Acid and *p*-Toluene Sulfonic Acid in Doxycycline Waste Water by UV Spectrophotometry[J]. *J Instrum Anal*,2006,**25**(4):113-115(in Chinese).  
张凌,李德亮,崔节虎,等. 紫外光谱法同时测定强力霉素废水中磺基水杨酸与对甲基苯磺酸[J]. *分析测试学报*,2006,**25**(4):113-115.
- [6] Fan X M,Wang S M,Su Z K,*et al.* Determination of Cinnamic Acid in Human Urine by Flow Injection Chemiluminescence[J]. *Quim Nova*,2011,**34**(8):1405-1408.
- [7] Wang J P,Li N B,Luo H Q. Chemiluminescence Determination of Ferulic Acid by Flow-Injection Analysis Using Cerium(IV) Sensitized by Rhodamine 6G[J]. *Spectrochim Acta*,2008,**71**(13):204-208.
- [8] Qu P,Yan S C,Lu H,*et al.* Flow-Injection Chemiluminescence Determinations for Human Blood Lead Using Controlled Reagent Release Technology[J]. *Microchim Acta*,2008,**163**(3/4):321-326.
- [9] WU Xiongzi,LU Xiaohui,WANG Lihong. Determination of 5-Sulfosalicylic Acid by Flow Injection Chemiluminescence Method Based on Luminol-potassium Permanganate System[J]. *Chinese J Anal Lab*,2010,**29**(12):94-97(in Chinese).  
吴雄志,吕晓惠,王立红. 鲁米诺-高锰酸钾体系化学发光法测定 5-磺基水杨酸[J]. *分析试验室*,2010,**29**(12):94-97.
- [10] Golcu A,Wheatley R A,Demirelli H,*et al.* Investigations into the Inhibition of Luminol Chemiluminescence by Some Novel Metal Complexes[J]. *Curr Anal Chem*,2010,**6**(2):144-153.

- [11] Shi W B, Hui W, Huang Y M. Luminol-silver Nitrate Chemiluminescence Enhancement Induced by Cobalt Ferrite Nanoparticles[J]. *Luminescence*, 2011, **26**(6):547-552.
- [12] Adcoke J L, Francisc P S, Barnett N W. Acidic Potassium Permanganate as a Chemiluminescence Reagent-A Review[J]. *Anal Chim Acta*, 2007, **601**(1):36-39.
- [13] Zhang H Z, Nie F, Lu J R. Flow Injection Chemiluminescence Method for the Determination of Pentoxifyverine Citrate Based on NCS-Dichlorofluorescein Post-chemiluminescence Reaction[J]. *Spectrochim Acta Part A*, 2009, **72**(21):858-862.
- [14] LIU Ruxia, LU Jiuru. Determination of Cyproheptadine Hydrochloride with Riboflavin Chemiluminescence System[J]. *Chinese J Anal Chem*, 2009, **37**(2):267-270(in Chinese).  
刘瑞霞, 吕九如. 核黄素化学发光体系测定盐酸赛庚啶[J]. 分析化学, 2009, **37**(2):267-270.
- [15] YANG Jidong, HUANG Yuming, LIU Shaopu. Flow-Injection Chemiluminescence Analysis of Ammonium Based on the NBS-Ammonium-fluorescein System[J]. *J Southwest China Normal Univ*(Nat Sci), 2002, **27**(3):372-374(in Chinese).  
杨季冬, 黄玉明, 刘绍璞. NBS-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-荧光素体系流动注射化学发光法测定铵[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2002, **27**(3):372-374
- [16] FANG Luqiu, LI Xiaoyan, YANG Jidong. NBS-Fluorescein System for the Determination of Phenformin Hydrochloride by Flow Injection Chemiluminescence[J]. *J Instrum Anal*, 2004, **23**(2):20-22(in Chinese).  
方卢秋, 李晓燕, 杨季冬. NBS-荧光素体系流动注射化学发光法测定盐酸苯乙双胍[J]. 分析测试学报, 2004, **23**(2):20-22.
- [17] FANG Luqiu. FI-chemiluminescence Determination of N<sup>1</sup>-Dimethylbiguanide Hydrochloride[J]. *Phys Test Chem Anal, Part B:Chem Anal*, 2003, **39**(9):512-514(in Chinese).  
方卢秋. NBS-荧光素体系流动注射化学发光法测定盐酸二甲双胍[J]. 理化检验, 化学分册, 2003, **39**(9):512-514.
- [18] Bai H, Nie F, Lu J R. Post-chemiluminescence Phenomenon of NBS-luminol Reactions and Their Applications to Flow Injection Analysis of Piroxicam[J]. *Anal Sci*, 2007, **23**(11):1301-1304.

## Determination of 5-Sulfosalicylic Acid in the Waste Water by NBS-Dichlorofluorescein in Chemiluminescence System

FAN Xuemei<sup>\*</sup>, WANG Shumin, LI Qian, WANG Xiangting, WANG Xiansheng, CHEN Fengying  
(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Shangluo College, Shanxi Shangluo 726000, China)

**Abstract** A new flow-injection chemiluminescence method for the determination of 5-sulfosalicylic acid was proposed. Various factors affected the chemiluminescence signal were investigated and the possible mechanism was also studied. Under the optimum conditions, the linear range for the determination of 5-sulfosalicylic acid was  $5.0 \times 10^{-8} \sim 2.0 \times 10^{-5}$  mol/L with a detection limit ( $S/N = 3$ ) of  $1.0 \times 10^{-8}$  mol/L. The relative standard deviation was 2.7% for  $5.0 \times 10^{-6}$  mol/L 5-sulfosalicylic acid solution in nine repeated measurements. The method was successfully applied to the determination of 5-sulfosalicylic acid in the waste water of doxycycline.

**Keywords** flow-injection, chemiluminescence, dichlorofluorescein, sulfosalicylic acid