

Fe(III) - 二溴邻硝基苯基荧光酮-CPB-Tween20 体系分光光度法测定粮食中铁的研究

侯明 桂林工学院应用化学系 桂林 541004

摘要 研究了铁(III)-二溴邻硝基苯基荧光酮(DBONPF)-溴化十六烷基吡啶(CPB)的显色反应,建立了分光光度测定粮食中微量铁的新方法。结果表明,在pH3.4的柠檬酸- Na_2HPO_4 缓冲溶液中,铁(III)与DBONPF和CPB反应生成一稳定紫红色配合物,表面活性剂Tween20的加入可提高体系的灵敏度。配合物最大吸收波长为630nm,表观摩尔吸光系数 $\Sigma_{630} = 1.2 \times 10^3 \text{ Lmol}^{-1} \cdot \text{cm}$ 、铁量在0~2 $\mu\text{g}/25\text{ml}$ 范围内符合比尔定律。配合物的组成比为:Fe(III):DBONPF:CPB=1:5:5。研究了共存离子的影响和消除,方法用于大米、小米和面粉中痕量铁的测定,结果满意。

关键词 铁 二溴邻硝基苯基荧光酮 溴化十六烷基吡啶 分光光度法

铁是人体造血不可缺少的微量元素。缺铁会引起贫血,使儿童智力发育迟缓等。因此,粮食中铁含量的测定具有重要的实际意义。传统的硫氰酸光度法灵敏度低($10^3 \sim 10^4$),且铁铬离子的色泽很不稳定,即便有过氧化氢作稳定剂时其吸光度也只能在30min之内基本不变,随温度升高,稳定性更差,难于实际应用。近年来,荧光酮类试剂作为优良显色剂在分析化学中有广泛应用^[1~7],而用二溴邻硝基苯基荧光酮测定粮食中微量铁未见报道。我们实验发现,在pH3.4的柠檬酸- Na_2HPO_4 缓冲介质中,在表面活性剂CPB和Tween20存在下,铁(III)与DBONPF和CPB反应生成稳定的紫红色配合物。其吸光度与铁含量在一定范围内符合比尔定律,据此建立了分光光度测定微量铁的新方法。本法灵敏度高达 1.2×10^3 ,配合物可稳定至少24h,且不受温度的影响,研究了体系的最佳条件和配合物的光度特性,用拟定的方法测定了大米、小米和面粉中的微量铁,获得满意结果。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

7210型分光光度计(上海分析仪器厂)

PHB-298型酸度计(上海雷磁厂)

铁(III)标准溶液:准确称取0.1429g光谱纯 Fe_2O_3 于小烧杯中,用HCl(1+1)10ml加热溶解,冷却后移入100ml容量瓶中,水稀释至刻度,摇匀,配成1g/L铁(III)储备液,使用时稀释为10mg/L工作溶液。

二溴邻硝基苯基荧光酮(DBONPF)乙醇溶液: $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 。准确称取0.1268g DBONPF试剂,用少量无水乙醇溶解,滴加几滴 H_2SO_4 (1+1),用无水乙醇定容至250ml容量瓶中。

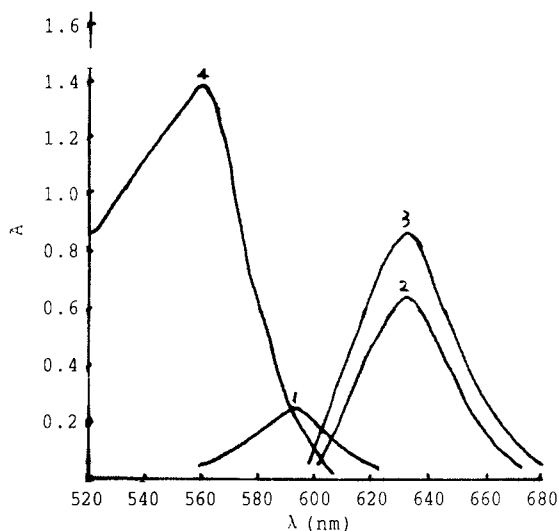
溴化十六烷基吡啶(CPB)溶液: $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$, Tween20溶液:1%。

柠檬酸(Cit)-磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)缓冲溶液:用浓度为0.2mol/L的 Na_2HPO_4 和0.1mol/L柠檬酸按一定体积比配成不同pH缓冲溶液,于酸度计上调至所需pH值。

所用试剂除注明外均为分析纯级,所用水为离子交换蒸馏水。

1.2 实验方法

移取一定量的铁(III)标准溶液于25ml比色管中,加入1滴0.1%的对硝基酚指示剂,用0.05mol/L NaOH溶液和0.04mol/L H_2SO_4 溶液调至黄色消失,依次加入5.0ml pH3.4的柠檬酸- Na_2HPO_4 缓冲溶液,2.5ml $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ DBONPF溶液,5.0ml 10^{-3} mol/L CPB溶液,1.0ml 1% Tween20溶液,用水稀释至刻度,摇匀,放置10min,在分光光度计上,用1cm



- 1 Fe(III)-DBONPF/试剂空白;
- 2 Fe(III)-DBONPF-CPB/试剂空白;
- 3 Fe(III)-DBONPF-CPB-Tween20/试剂空白;
- 4 Fe(III)-DBONPF-CPB-Tween20/水, $\text{Fe}^{3+}=10\mu\text{g}$

图1 吸收光谱

比色皿,以试剂空白为参比于630nm处测量配合物吸光度。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱

按实验方法,分别对试剂空白和配合物的吸收光谱进行扫描,见图1。

由图可知,在测定的酸度下,当无表面活性剂存在时,Fe(III)-DBONPF配合物的最大吸收峰位于590nm(曲线1),显色反应的灵敏度较低。加入阳离子表面活性剂CPB后,由于Fe(III)-DBONPF-CPB多无配合物的生成,显色反应灵敏度明显提高,其最大吸收峰移至630nm(曲线2)。当有表面活性剂CPB和Tween20共存时,配合物的最大吸收峰不变,但体系的灵敏度又有增加(曲线3)。相应的试剂空白的最大吸收峰为560nm(曲线4),配合物与试剂的对比度 $\Delta\lambda=70\text{nm}$ 。

2.2 介质和酸度的影响

试验了不同的介质对显色反应的影响,结果表明, H_2SO_4 、硼酸-NaOH、邻苯二甲酸氢钾-HCl介质反应灵敏度很低, NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 介质使显色反应灵敏度较好,但配合物不稳定,柠檬酸- Na_2HPO_4 介质使显色反应灵敏度高且配合物稳定性好。实验表明,当pH在2.4~4.0范围内,用量在4.0~8.0ml之间,配合物吸光度大且恒定,本文选用pH3.4的柠檬酸- Na_2HPO_4 缓冲介质,其用量为5.0ml。

2.3 显色剂用量的影响

实验表明,浓度为 $1.0 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的二溴邻硝基苯基荧光酮显色剂溶液,用量在2.0~4.0ml范围内,配合物吸光度最大且稳定不变,本文选用DBONPF溶液用量为2.5ml。

2.4 表面活性剂的选择及用量的影响

试验了不同类型的表面活性剂对配合物吸光度的影响,结果表明,非离子表面活性剂OP,吐温系列,阴离子表面活性剂SDS、SLS以及任意两者的混合物对体系均无增敏作用,向阳离子表面活性剂CPB或CTMAB有相似的增敏作用,CPB的增敏效果更好。实验还发现,当在含有CPB的显色溶液中加入任一种吐温试剂(Tween20, 40、60、80),体系有明显的协同增敏作

用,其中CPB和Tween20共存时,其增敏、增稳效果最好。当CPB溶液用量在3.7~7.0ml, Tween20用量在0.5~1.5ml范围内,配合物吸光度最大且恒定,本文选用 $5.0 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ CPB和1% Tween20作为体系的表面活性剂,其用量比为CPB: Tween20(v/v)=5:1。

2.5 显色时间和配合物的稳定性

常温下显色反应10min完成,配合物可稳定24h,随着时间的进一步延长,配合物吸光度缓慢下降,温度不影响配合物的稳定性。

2.6 配合物组成

用摩尔比法和等摩尔连续变化法测得配合物的组成比为Fe(III): DBONPF:CPB=1:5:5。

2.7 工作曲线和灵敏度,精密性

取不同的铁标准溶液,按最佳条件绘制铁的工作曲线,铁含量在0~20 $\mu\text{g}/25\text{ml}$ 范围内符合比尔定律,工作曲线的线性回归方程为:

$A=0.003385+0.08516C$ ($C=\mu\text{g}/25\text{ml}$) $r=0.9996$,由此计算得表观摩尔吸光系数 $\Sigma=1.2 \times 10^5\text{L}/\text{mol} \cdot \text{cm}$ 。对于5 μg Fe^{3+} 的测定,其相对标准偏差为1.0% ($n=9$)。

2.8 共存离子的影响

对于5 μg Fe(III)的测定,以相对误差 $\leq \pm 5\%$ 时,下列离子的允许量(mg)为: K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 允许大量存在, F^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ba^{2+} (5)、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Mn^{2+} (2)、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 As^{3+} 、 Sb^{3+} 、 Bi^{3+} 、W(VI)(0.5)、 Ni^{2+} 、 Cr(VI) 、 Ti(IV) 、 Ge(IV) 、 Sn(IV) 、 Se(IV) (0.05)、 Mo(VI) 、 Hg^{2+} (0.02)、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、V(V)(0.01)、Nb(V)、Ta(0.005)、硫脲(150)、0.1mol/L NaF溶液2ml可允许 Al^{3+} (0.5)、 Mo(VI) 、 Sn(IV) 、 Cr(VI) (0.2)、1%硫脲溶液1ml可允许 Cu^{2+} (0.3)。一般粮食中 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 等的含量均小于Fe含量,故可直接用本法测定。

3 分析应用

称取0.5~1.0g粮食试样(预先经蒸馏水洗净低温烘干)

表1 样品中铁的分析结果

样品	测定值 ($\mu\text{g/g}$)			平均值 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	加入铁量 ($\mu\text{g/g}$)	测得总量 (n=5) ($\mu\text{g/g}$)	回收率 (%)
大米	7.3	7.6	7.8	7.7	3.9	10	17.6	99
	7.9	8.1						
小米	38.9	38.2	39.5	39.3	2.0	40	79.6	100.7
	39.9	40.1						
面粉	41.0	41.7	42.5	41.9	1.4	40	82.4	101.2
	42.0	42.3						

于30ml瓷坩埚中,于低温电炉上炭化后,移入马弗炉中,于500℃灰化2.5~3.0h,取出坩埚冷却(若试样未全部变为灰白色,应加入1ml浓硝酸润湿,低温蒸干后于500℃马弗炉中再灼烧1h),加入5.0ml 2mol/L H_2SO_4 溶液,加热浸取,冷却后移入50ml容量瓶中,调节溶液酸度至近中性,用水稀释至刻度,摇匀,同时做试剂空白。

取一定体积试液($Fe^{3+} \leq 10 \mu g$)于25ml比色管中,以下按实验方法操作,同时做标准加入回收试验,结果见表1。

由上可见,分析结果的相对标准偏差RSD<5%,回收率在99%~101%之间,其精密度和准确度满足痕量分析要求。本方法操作简便,快速、条件宽容,尤其是灵敏度和稳定性明显优于传统的硫氰酸光度法,不仅适合于粮食中痕量铁的测定,而且也可应用于其他生物样品的分析测定。

参考文献

- 1 夏心龙,邵光钧.金属离子-取代基苯基荧光酮-表面活性剂分光光度法研究的进展.分析试验室,1988,7(4):41~43.
- 2 段群章.苯基荧光酮类试剂在稀有金属光度分析中的应用新进展.冶金分析,1995,15(3):35.
- 3 袁新民,罗宗铭.苯基荧光酮及其衍生物在光度分析中的应用.冶金分析,1997,17(2):25~33.
- 4 王东进.对硝基苯基荧光酮与铁显色反应的研究及应用.理化检验(化),1994,30(40):208~210.
- 5 付佩玉,曹伟.二溴羟基苯基荧光酮与铁显色反应及应用.岩矿测试,1997,16(1):51~53.
- 6 刘艳如,周芳萍,胡昭对等.4,5-二溴邻硝基苯基荧光酮分光光度法测定铈和钼.化学试剂,1998,10(4):207~209.
- 7 周振太,潘教麦.GE(IV)-DBONTF-Triton x-100吸光度法测定锆的研究和应用.理化检验(化),1999,35(6):275~276.

化学发光型葡萄糖传感器法测定食品中的葡萄糖

袁道强 舒友琴 郑州牧业工程高等专科学校 郑州 450008

摘要 报道了一种基于用溶胶凝胶法固定葡萄糖氧化酶(GOD)的化学发光型葡萄糖传感器,此传感器用于流动注射化学发光分析体系,可实现对葡萄糖的在线检测,测定的线性范围为10~1000 $\mu mol/L$,检出限为0.8 $\mu mol/L$,10次测定的RSD为1.6%,单次测定能在1min内完成。方法可用于各种食品中葡萄糖含量的测定。

关键词 溶胶凝胶技术 固定化 葡萄糖氧化酶 化学发光 葡萄糖

Abstract In this paper, a kind of chemiluminescence glucose sensor based on GOD glucose oxidase immobilized by sol-gel was proposed. With the application of the sensor to flowing injection chemiluminescent system, glucose could be effectively determined with the linear range of its concentration in 10~1000 $\mu mol/L$ and detection limit at 0.8 $\mu mol/L$. A complete analysis could be performed in 1 min with RSD (Relative Standard Deviation) of 1.6%. The system has been applied successfully to the determination of glucose in various food samples.

Key word Sol-gel technique Immobilization GOD Chemiluminescence Glucose sensor

葡萄糖测定的国标方法之一是酶法,在常规酶法分析中,溶液酶是一次性消耗的,不能得复使用,造成酶试剂的浪费。将酶固定化后与流动注射分析相结合用于葡萄糖含量的测定,方法具有多种优点:节省酶试剂;操作简便;专一性;样品预处理简单;测定速度快,单次测定在1min内完成。

溶胶凝胶过程具有纯度高、均匀性强、处理温度低、反应易于控制等优点^[1],另外,近期的研究^[2~5]表明,采用溶胶凝胶技术将酶固定于无机陶瓷或玻璃材料内,酶的活性保持能有明显改善。选用二氧化硅作基质材料比使用有机聚合物材料具有更好的坚固性、抗磨性、化学惰性以及高的光稳定性和透过性。使之比传统的固化方法具有更多的优势。但到目前为止,将酶固定于溶胶凝胶中的大量应用是在电化学传感器的制作中^[6,7],而在化学发光型传感器中应用很少。本研究采用硅酸乙酯(TEOS)的溶胶凝胶过程固定了GOD,制备了固定化的GOD酶柱,并结合流动注射化学发光系统测定了不同食品中的葡萄糖含量。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

IFIS-C型智能流动注射进样器及GD-1型微光测量仪(西安瑞科电子设备有限公司),Rikadenki记录仪。发光分析的流路系统如图1所示。

葡萄糖氧化酶(GOD)为日本Toyobo公司产品(127U/mg) Luminol(自制)、 $K_3Fe(CN)_6$ 、葡萄糖及其他有关试剂

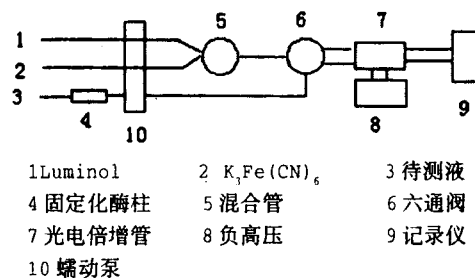


图1 流动注射化学发光分析流路图