

# 水中痕量镉的化学发光测定法

刘晓宇, 丁卫, 李爱芳, 吴谋成  
(华中农业大学食品科技学院, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 本研究采用静态注射化学发光法, 研究了 Cd(II) 对鲁米诺-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 发光体系的抑制现象, 据此建立了 Cd(II) 的抑制化学发光测定法并应用于水中痕量镉的测定。研究表明, Co(II) 对鲁米诺-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 体系的发光强度有明显增强作用, 而 Cd(II) 对鲁米诺-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 体系的发光强度有抑制作用。进一步的研究表明在实验选定的最佳条件下, 在 Cd(II) 浓度为  $1.0 \times 10^{-7} \sim 5.0 \times 10^{-6}$  g/ml 范围内, Cd(II) 对鲁米诺-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 体系发光强度的抑制作用与 Cd(II) 浓度呈现较好的线性关系, 检出限为  $3.2 \times 10^{-8}$  g/ml。该方法用于实际水样中 Cd(II) 的测定, 结果令人满意。同时, 对本反应做了进一步研究, 提出了可能的反应机理。

**关键词:** 化学发光; 镉; 抑制作用; 反应机理

Determination of Trace Amount of Cd (II) in Water by Chemiluminescence Assay

LIU Xiao-yu, DING Wei, LI Ai-fang, WU Mou-cheng  
(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Inhibitory function of luminol-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> chemiluminescence by Cd(II) was studied in this research using static-injection chemiluminescence, and it was applied to determine Cd(II) in water. The results indicated that Co(II) enhanced the chemiluminescence intensity of luminol-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, while Cd(II) restrained the chemiluminescence intensity of luminol-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Further research indicated that the restraint of luminol-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> chemiluminescence by Cd(II) had a relationship with the concentration of Cd(II) in water. The linear range is  $1.0 \times 10^{-7} \sim 5.0 \times 10^{-6}$  g/ml. The limit of detection is  $3.2 \times 10^{-8}$  g/ml. The method was applied to the determination of Cd(II) in water and satisfactory result was obtained. Meanwhile, the possible reaction mechanism was put forward based on the further study.

**Key words** chemiluminescence; cadmium; inhibitory function; reaction mechanism

中图分类号: X131.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0388-05

镉(cadmium, Cd)是一种银白色重金属, 质地柔软, 富有延展性, 抗腐蚀、耐磨, 广泛并持久存在

于环境中, 对人和动物造成极大的健康危害<sup>[1]</sup>。在人体内, 镉的半衰期长达 7~30 年, 可蓄积 50 年之久, 能

收稿日期: 2007-05-21

基金项目: 华中农业大学引进人才项目(2003032)

作者简介: 刘晓宇(1969-), 女, 副教授, 研究方向为食品安全及农业资源综合利用。

## 参考文献:

- 王如才, 王昭萍, 张建中, 等. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1993.
- 章超桦, 吴红棉, 杨文鹤, 等. 马氏珠母贝肉的营养成分及游离氨基酸组成[J]. 水产学报, 2000(2): 180-183.
- 李轩贞, 成立华, 方按, 等. 珍珠母中微量元素的研究[J]. 中国海洋药物, 1990(3): 5-7.
- 杨惠芬, 李明元, 沈文. 食品卫生理化检验标准手册[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- 中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所. 食物成分表[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- 谭乐义, 章超桦, 薛长湖, 等. 牛磺酸的生物活性及其在海洋生物中的分布[J]. 湛江海洋大学学报, 2000, 20(3): 75-79.
- 李萃萃, 丁霄霖. 功能性天然贻贝调味汁的研制及营养成分分析[J]. 中国调味品, 2006(2): 17-19.
- FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee. Energy and protein requirements [R]. FAO Nutrition Meeting Report Series, 1973, 52: 40-73.
- 黄雨三. 保健食品检验与评价技术规范实施手册[M]. 北京: 清华同方电子出版社, 2003.
- 李来好, 刁石强, 陈培基, 等. 南海珍珠贝肉的营养成分分析与评价[J]. 水产学报, 1999, 23(4): 393-396.

对多种器官和组织造成损害<sup>[2]</sup>。大量研究表明,镉具有致癌性。镉广泛存在于自然界中,随着城市工业化、都市化的发展,大量的镉连续不断地进入土壤、水和空气。因而,环境中镉的检测对保护人类健康及促进环境安全十分重要。

在镉的测定中,常用方法有原子吸收<sup>[3-4]</sup>、双硫脲比色法<sup>[5]</sup>和阳极溶出伏安法<sup>[6]</sup>。近年来,化学发光分析以其灵敏度高、设备简单、操作方便等优点被引进环境监测中<sup>[7-8]</sup>,与流动注射分析技术联用时,大大提高了分析速度和精密度。

本研究旨在建立简单,快速,成本低,灵敏度高的水样中Cd(II)含量的化学发光分析方法。同时,通过对相关体系的化学发光机理的研究,并结合相关研究报告提出可能的反应机理,为镉的化学发光分析进一步研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

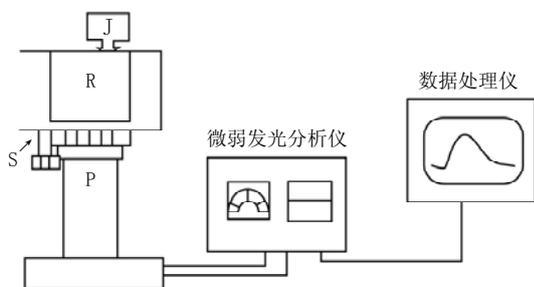
### 1.1 仪器与试剂

BPCL-I型超微弱发光分析仪 中科院生物物理研究所; RF-5301PC型荧光分光光度计 岛津仪器公司; PHS-3C型精密PH计 上海雷磁仪器厂; 移液枪 大龙医疗设备上海有限公司。

鲁米诺 Sigma公司; 储备液( $1.0 \times 10^{-2}$ mol/L): 称取0.4429g鲁米诺用1mol/L的NaOH 12.5ml溶解后,用二次去离子水定容至250ml的棕色容量瓶中,摇匀。使用时用水逐级稀释至所需浓度; 其它试剂均为分析纯,水为二次去离子水。

### 1.2 方法

化学发光信号检测采用微弱发光分析仪,装置如图1。将化学发光试剂加入反应池中,加入样品溶液,加样前,打开反应池与光电倍增管的连接开关,所获数据通过微机记录并处理,据此得到最大且重复性较好的发光信号。



S. 反应池与光电倍增管的连接开关; P. 光电倍增管; J. 样品进样装置; R. 反应池。

图1 化学发光分析系统示意图  
Fig.1 Detectable devices of static chemiluminescence

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 鲁米诺浓度的影响

鲁米诺作为发光试剂,其浓度在一定的范围内影响化学发光强度。本研究考察了在 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-3}$ mol/L浓度范围内鲁米诺溶液浓度与化学发光强度的关系。由图2可见,随着鲁米诺浓度的增大, $\Delta I$ (化学发光信号强度)也不断增大。研究过程中不仅要求选取的鲁米诺浓度能够便于观察实验现象,而且要求试剂消耗量不能过大,综合考虑上述要求,鲁米诺浓度初步选定为 $5.0 \times 10^{-4}$ mol/L。

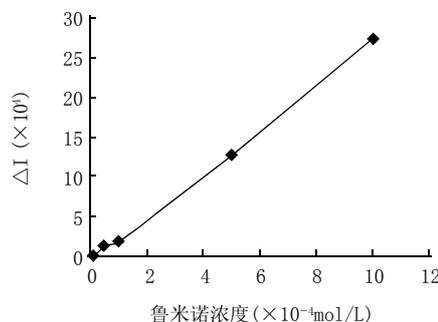


图2 鲁米诺浓度的影响  
Fig.2 Effects of luminol concentration on CL

#### 2.1.2 $H_2O_2$ 浓度的影响

过氧化氢是该化学发光反应体系的氧化剂,其浓度的大小对发光强度有直接的影响。本研究考察了在0.001~0.5mol/L浓度范围内过氧化氢浓度与化学发光强度的关系,结果如图3所示。随着过氧化氢浓度的提高, $\Delta I$ (化学发光强度)也不断增加,当过氧化氢浓度为0.3mol/L时发光信号最大,因此,选择0.3mol/L为过氧化氢溶液的最佳浓度。

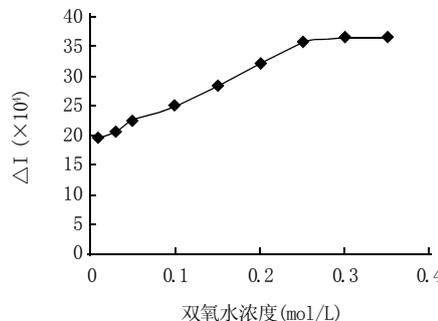


图3 双氧水浓度的影响  
Fig.3 Effects of hydrogen peroxide concentration on CL

#### 2.1.3 Co(II)浓度的影响

Co(II)对该体系化学发光强度的影响结果如图4所

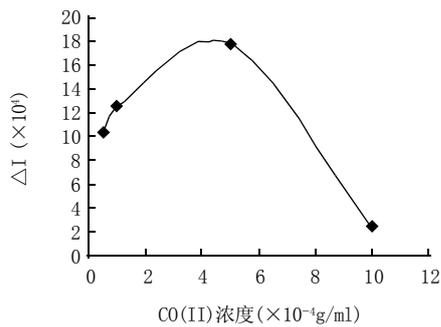


图4 Co(II)浓度的影响  
Fig.4 Effects of Co(II) concentration on CL

示。随着Co(II)浓度的增大,  $\Delta I$  呈先增大后减小的趋势, 而Co(II)浓度为  $5.0 \times 10^{-4} \text{g/ml}$  时  $\Delta I$  值最大。因此, Co(II)最佳浓度初步选为  $5.0 \times 10^{-4} \text{g/ml}$ 。

#### 2.1.4 pH 值的影响

研究过程中发现, 当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。

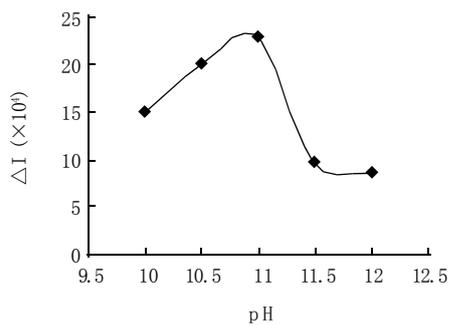


图5 pH值的影响  
Fig.5 Effects of pH value on CL

图5表明随着在pH值为10~12的范围内, pH值为11.0时  $\Delta I$  取得最大值, 因此, pH值初步定为11.0。

#### 2.2 正交试验

通过单因素试验初步确定最佳反应条件后, 进一步设计了正交试验, 通过正交试验最终确定最佳反应条件。本研究设计了四因素三水平的正交试验, 正交试验表如表1。

将试验的结果采用SAS程序进行分析, 其分析的结果如表2所示。

由表2看出, 本研究中四个影响因素的Pr值都小于

表1 正交试验方案及结果

Table 1 Orthogonal array design matrix and test results

编号	A	B	C	D	Cd(II)的发光信号
1	1	1	1	1	12046.7
2	1	2	2	2	23281.7
3	1	3	3	3	21576
4	2	1	2	3	59293.3
5	2	2	3	1	6933.4
6	2	3	1	2	20250
7	3	1	3	2	3650
8	3	2	1	3	150423.3
9	3	3	2	1	17590

注: 因素A代表鲁米诺分析液浓度, 水平1为  $1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ , 水平2为  $5.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ , 水平3为  $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 。因素B代表  $\text{H}_2\text{O}_2$  浓度, 水平1为  $0.2 \text{mol/L}$ , 水平2为  $0.25 \text{mol/L}$ , 水平3为  $0.3 \text{mol/L}$ 。因素C代表Co(II)浓度, 水平1为  $1.0 \times 10^{-4} \text{g/ml}$ , 水平2为  $5.0 \times 10^{-4} \text{g/ml}$ , 水平3为  $1.0 \times 10^{-3} \text{g/ml}$ 。因素D代表pH值, 水平1为10.5, 水平2为11.0, 水平3为11.5。

0.0001, 试验选取的四个因素对测定结果影响都极显著, 比较F值得各因素的影响程度大小顺序为  $A > C > D > B$ 。

通过SAS软件的分析各影响因素水平的方差, 最终确定反应体系的最佳优化组合为  $A_3B_2C_1D_3$ , 即: 鲁米诺分析液浓度为  $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ , 双氧水浓度为  $0.25 \text{mol/L}$ , Co(II)浓度为  $1.0 \times 10^{-4} \text{g/ml}$ , pH值为11.5。

#### 2.3 标准曲线、精密度及检出限

在选定的最佳实验条件下, Cd(II)在  $1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-6} \text{g/ml}$  的浓度范围内与发光强度呈线性关系, 其回归方程为:  $y=1.9224x+4.9623$ , 相关系数R为0.9995。对浓度为  $1 \times 10^{-6} \text{g/ml}$  的Cd(II)连续进行11次平行测定的相对标准偏差为4.7%。根据IUPAC建议, 计算得该方法检出限为  $3.2 \times 10^{-8} \text{g/ml}$ 。

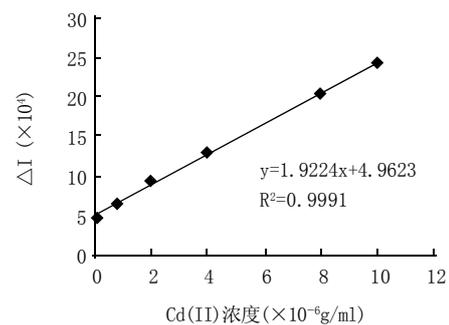


图6 Cd(II)标准曲线  
Fig.6 Standard curve of Cd(II)

表2 正交试验结果方差分析

Table 2 Variance analysis of the orthogonal test results

来源	DF	Anova SS	Mean square	F值	Pr > F
鲁米诺浓度	2	17244094733	8622047366	$1.375 \times 10^8$	<0.0001
$\text{H}_2\text{O}_2$ 浓度	2	6473047931	3236523965	$5.162 \times 10^7$	<0.0001
Co(II)浓度	2	8020923758	4010461879	$6.396 \times 10^7$	<0.0001
pH	2	6664776843	3332388421	$5.315 \times 10^7$	<0.0001

表3 样品中Cd(II)含量测定结果  
Table 3 Results of content of Cd(II) in sample

样品	Cd(II)含量	加入量(g/ml)	测出量(g/ml)	回收率(%)	精密度(%) (n=6)
自来水	未检出	$1.00 \times 10^{-6}$	$1.16 \times 10^{-6}$	116	3.4
南湖水	未检出	$1.00 \times 10^{-6}$	$1.16 \times 10^{-6}$	116	3.7

2.4 干扰实验

通过对选取的干扰样的测定, 得到结果如下: Cd(II)浓度为  $1.0 \times 10^{-6}$ g/ml 时, 至少允许 1000 倍的  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Cl^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $NO_3^-$ 、葡萄糖共存; 允许 100 倍的  $Ba^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$  共存; 允许 10 倍的  $Mn^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、淀粉、蔗糖共存; 等量的  $Zn^{2+}$  产生干扰。由此可见, 该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采取适当的分离措施。如果必要, 一些金属离子的干扰可以通过加入少量的 EDTA (乙二胺四乙酸二钠) 予以掩蔽。

2.5 样品分析及回收率实验

2.5.1 样品中Cd(II)含量的测定

样品取自华中农业大学校园, 测定结果见表 3。

2.5.2 回收率实验

向样品中加入一定量Cd(II)标准溶液使样品中Cd(II)含量达到  $1.0 \times 10^{-6}$ g/ml, 然后测定其发光信号值并计算回收率, 结果见表 3。

2.6 机理探讨

应用 RF-5301PC 型荧光分光光度计分别对鲁米诺溶液、鲁米诺-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 混合液、鲁米诺-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 混合液及鲁米诺-Co(II)-Cd(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 混合液进行荧光光谱分析, 同时绘制相关体系的化学发光动力学曲线。动力学曲线及各荧光图谱如图 7~11 所示。

由图 7 可知, 各化学发光体系均为快反应, 1 s 时发光信号最大。而由图 8 和图 9 可以看出: 鲁米诺的最大发射波长在 420nm 处, 加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 后最大发射波长仍然在 420nm 处, 这与已有的研究报道相一致, 发光体是 3-氨基邻苯二甲酸根离子的激发态<sup>[9-10]</sup>。而图 10 则说明在加入 Co(II) 后最大发射波长发生了明显的变化, 而体系发光强度增大。结合相关报道可以推断, Co(II) 在

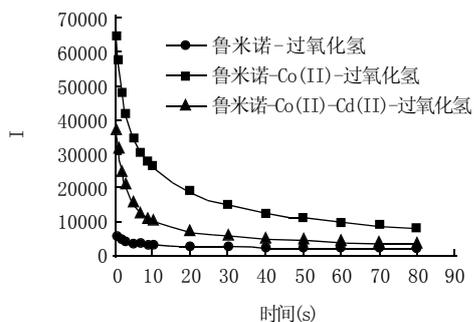


图7 反应体系化学发光动力学曲线  
Fig.7 Dynamic curves of chemiluminescence

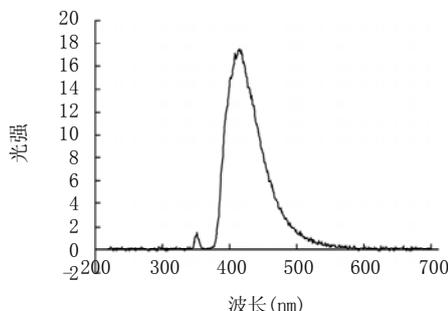


图8 鲁米诺发射光谱图  
Fig.8 Fluorescence spectrum of luminol

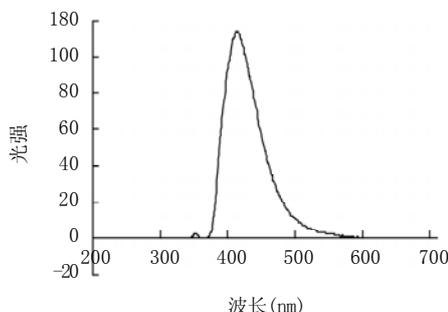


图9 鲁米诺-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>体系发射光谱图  
Fig.9 Fluorescence spectrum of luminol-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

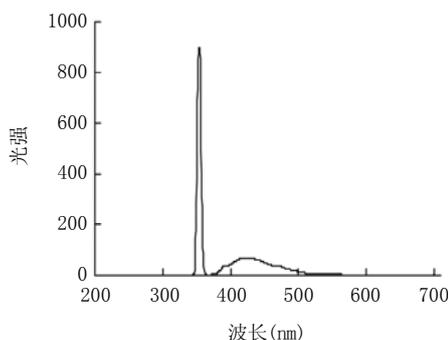


图10 鲁米诺-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>体系发射光谱图  
Fig.10 Fluorescence spectrum of luminol-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

鲁米诺被氧化的同时与其发生络合反应形成双配位基的六元螯合物, 然后水解, 水解产物再氧化生成激发态的 3-氨基邻苯二甲酸根离子<sup>[11]</sup>。图 11 反映出加入 Cd(II) 后, 鲁米诺-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 体系光强减弱而最大发射波长不变, 综合前人报道<sup>[12]</sup>, 推断 Cd(II) 对鲁米诺-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Co(II) 发光体系发生了类似荧光淬灭的作用(荧光淬灭作用是指由于荧光物质分子与溶剂分子或其他溶质分子相互作用, 而引起荧光强度降低的现象)从而导致量子化效率

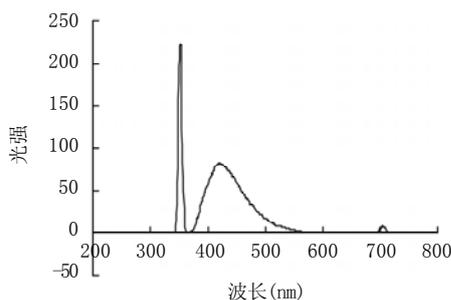


图11 鲁米诺-Co(II)-Cd(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>体系发射光谱图  
Fig.11 Fluorescence spectrum of luminol-Co(II)-Cd(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

降低使体系化学发光强度减弱。

### 3 结论

3.1 Co(II)对鲁米诺-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>化学发光体系有强增敏作用,而Cd(II)对鲁米诺-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>发光体系有抑制作用。据此建立了水中痕量镉的化学发光测定法。

3.2 在最佳反应条件下,Cd(II)浓度在 $1.0 \times 10^{-7} \sim 5.0 \times 10^{-6}$ g/ml范围内时, $\Delta I$ 与Cd(II)浓度成良好的线性关系。回归方程为 $y=1.9224x+4.9623$ ,线性回归方程相关系数为0.9995,检出限为 $3.2 \times 10^{-8}$ g/ml。

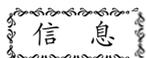
3.3 实际样品(南湖水及自来水)中未检出Cd(II)。

3.4 提出的可能反应机理为:鲁米诺溶液的最大发射波长在420nm处,发光体是3-氨基邻苯二甲酸根离子的激发态。向鲁米诺中加入H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>后并没有新的发光物质生成,发光体仍然是3-氨基邻苯二甲酸根离子的激发态。

加入Co(II)后Co(II)与鲁米诺反应生成了一种螯合物,同时由相关现象推断出Cd(II)对鲁米诺-Co(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>发光体系有类似荧光淬灭的作用。

### 参考文献:

- [1] 朱梅年. 微量元素与健康[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1980.
- [2] 刘杰. 镉的毒性和毒理学研究进展[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1998, 16(1): 2-4.
- [3] 卞莉, 曹萍. 石墨炉原子吸收光谱法测定土壤样品中镉[J]. 吉林地质, 2005, 24(2): 115-117.
- [4] 叶晓英. 饮用水中镉、铅的石英缝管火焰原子吸收分光光度测定法[J]. 职业与健康, 2005, 21(9): 316-317.
- [5] 何巧玲, 周道贤. 双硫脲分光光度法检测水中镉的探讨[J]. 中国热带医学, 2002(增刊): 101.
- [6] 李耀华. 水中痕量镉的双硫脲修饰电极阳极溶出伏安测定法[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(4): 247-249.
- [7] 朱昌清, 王伦, 李永新, 等. 鲁米诺-8-羟基喹啉-5-磺酸-镉(II)-过氧化氢化学发光体系研究[J]. 分析化学研究报告, 1999, 27(6): 640-643.
- [8] 李树伟, 管隶. 苯并-15-冠-5-甲醛聚合物分离富集化学发光法测定镉的研究[J]. 四川师范大学学报, 1996, 19(4): 115-119.
- [9] WHITE E H, BURSEY M M. Chemiluminescence of luminol and related hydrazides: the light emission step[J]. Am Chem Soc, 1964, 86: 940-942.
- [10] 陈国南, 张林, 张帆. 金属配合物和原子簇化合物的电致化学发光及其应用[J]. 分析科学学报, 1999, 15(4): 332-337.
- [11] 郑海金. Mn<sup>2+</sup>对鲁米诺-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>化学发光反应的催化机理研究[J]. 分析试验室, 1998, 17(5): 67-69.
- [12] 肖凤娟, 杨惠芳, 李更辰. Pb<sup>2+</sup>和Cd<sup>2+</sup>对Tb<sup>3+</sup>·CaM系统中Tb<sup>3+</sup>荧光的淬灭作用研究[J]. 石家庄铁道学院学报, 2003, 16(2): 24-27.



## 食用土豆沙拉对人体免疫系统非常有利

长久以来人们就知道土豆对肠道健康有好处,但一项最新研究证实,土豆或许还对整个免疫系统有利,特别是食用土豆沙拉。结果发表在《Chemistry & Industry》上。

西班牙科学家发现,用大量生马铃薯淀粉(RPS)喂养的猪有更健康的肠道,这并不意外。但是他们同时发现RPS能降低猪血液中白血球数量,例如白细胞和淋巴细胞。白血球是炎症和其它疾病产生的,它们表明身体存在一定问题。

来自瑞典Goteborg大学的免疫学家Lena Ohman表示,这种现象表明整个身体都处于更健康的状态。RPS喂养的猪白细胞数量降低了15%左右。但Ohman也认为,同时观察到白细胞和淋巴细胞降低是令人吃惊的。

实验中,科学家用RPS喂养猪14周,以分析它们对肠道健康的作用。研究项目负责人Jose Francisco Perez说:“用RPS的目的是模拟高抗性淀粉的饮食。”

人类不会食用生土豆,但是会食用大量含有抗性淀粉的食物,例如冷煮土豆、豆荚、绿香蕉、意大利面和谷类。大约10%的人类食用淀粉是抗性淀粉,它们不会在小肠中消化,因此最终会进入大肠中发酵。

淀粉摄入能降低大肠癌风险,而且对肠易激综合症(IBS)有利。Ohman小组之前研究发现,对IBS病人而言淋巴细胞数量不会变化,但淋巴细胞会从周围血液聚集到肠道,这意味着IBS至少是部分炎症反应。因此她认为观察到淋巴细胞下降很有意思,或许含有抗性淀粉的食物对IBS病人有利。