

反相流动注射化学发光分析

ABEI-H₂O₂-Co(II) 化学发光体系的研究及其应用

李光浩 于振安*

(东北工学院化学系, 沈阳, 110006)

本文用 MSM 数学原理和计算机模拟优化过程研究了 ABEI-H₂O₂-Co(II) 化学发光体系的最佳反应条件. 用自行设计组装的流动注射化学发光仪, 对反应机理进行了初步探讨. 同时采用巯基棉柱预先分离干扰离子的方法, 从而提高了反应的选择性, 拟定了水样中痕量钴的新的化学发光测定方法. 并首次提出把反相流动注射分析和化学发光分析结合起来, 可以发挥两者的优点, 提高检测钴的灵敏度. 其检测下限达 $1.0 \times 10^{-11} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 水样测试的精密度良好, 回收率 98—102%, 分析速度 100 样 $\cdot \text{h}^{-1}$.

1982 年由 Johnson 和 Petty^[1] 提出的反相流动注射分析 (reversed Flow Injection Analysis, 简称 γ FIA), 是相对通常的正相 FIA 法而言的. 是以试样作载流, 定量注入试剂到试液流中去的一种分析新技术. γ FIA 法能在一定程度上克服基线漂移, 提高分析灵敏度和减少试剂消耗, 重现性好. 因此把化学发光分析与 FIA 结合起来可以发挥两者的优点. 我们观察到酰肼类化学发光试剂 *N*-(4-氨基丁基)-*N*-乙基苯甲酰肼 (ABEI)^[2] 在碱性介质中被 H₂O₂ 氧化时有较强的化学发光行为, 微量 Co(II) 对该化学发光反应有明显的催化作用. 本文用静态注射法研究了 ABEI-H₂O₂-Co(II) 体系的反应机理, 拟定了新的 γ FIA-CL 分析测定痕量钴的方法, 用于天然水质的分析获得满意效果, 在灵敏度、线性范围、选择性、分析速度诸方面均略优于文献报道^[3,4].

实 验

仪器 流动注射化学发光分析仪(自制)^[5]. TRB 八通道调速泵(东北电力学院仪器仪表

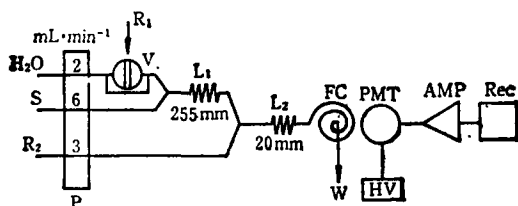


图1 γ FIA-CL 分析仪框图

厂); LZ-1020 多功能进样阀(沈阳电影反光镜厂); PMT 为光电倍增管(GDB-142); HV 为负高压电源(西安无线电八厂); AMP 为放大器; Rec 为 XWT-164 自动平衡记录仪(上海大华仪表厂); FC 为流通池, 内径 2.5 mm, 长 120 mm 的玻璃管弯曲成盘管; L₁ 和 L₂ 为混合管, 所用管道均为聚氯乙烯管, 内径 0.8 mm; S 为

样品; R₁ 为 1:1 ABEI:H₂O₂; R₂ 为 KOH 溶液; W 为废液.

试剂 Co(II) 标准溶液: 用 Co(NO₃)₂·6H₂O(G. R.) 配成浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 使用时再逐级稀释; ABEI 分析液: 称取 0.1490 g ABEI(沈阳药学院产品), 用少量水溶

解, 移至 500 mL 容量瓶, 定容, 配成 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 溶液; H_2O_2 溶液: 将 30% 分析纯 H_2O_2 配成 $1.0 \times 10^{-1} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 溶液. KOH 溶液: 用优级纯 KOH 配成. 实验用水均为二次蒸馏水.

实验方法 γ FIA-CL 分析流路见图 1, Co(II) 分析液, KOH 溶液由泵注入; 1:1 ABEI: H_2O_2 混合液由进样阀注入, 注入体积为 $100 \mu\text{L}$; 与此同时, 用记录仪记录化学发光强度, 并以峰高定量.

结果与讨论

化学发光反应的动力学性质 在化学发光反应中, 发光强度 I_s 和反应物浓度 c 间的关系为: $I_s = \phi_s dc(t)/dt$. 式中 ϕ_s 为发光物质的量子产率. I_s 可作为时间的函数来测量, 这是进行定量分析的基础. 从 $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Co(II) 试液的化学发光反应动力学曲线可看出 (见图 2), 反应从开始到 I_s 达到峰值仅历时 0.4 s, 反应完成只需 5 s, 所以 ABEI- H_2O_2 -Co(II) 体系化学发光反应是快速的. 实验表明, 试液中 Co(II) 的浓度越大, 反应越快, 信号峰就越尖锐. 本文以峰高进行定量.

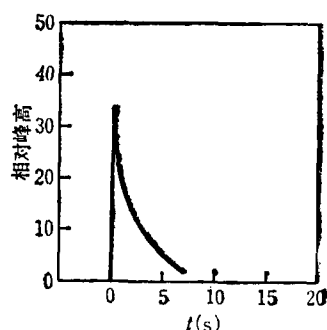


图 2 化学发光动力学曲线
 $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Co(II),
负高压 600 V

化学发光反应条件的优化 实验表明, 该化学发光体系的催化发光强度与 ABEI, H_2O_2 , KOH 溶液的浓度及混合管 L_1 的长度都有密切关系, 而且这些因素具有明显的交互作用, 故我们选用改进的单纯形优化法 (MSM) 进行优化实验, 选择 ABEI, H_2O_2 , KOH 的一定浓度和一定长的 L_1 , 以催化峰高为响应值进行实验, 优化进程列于表 1.

由表 1 可见, 通过计算机模拟改进单纯形优化至 15 顶点, 图形已收敛便得到较为满意的

表 1 ABEI- H_2O_2 -Co(II) 化学发光体系优化过程*

顶 点	保留顶点	因 素 水 平				响应值 (格)
		ABEI ($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)	H_2O_2 ($10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)	KOH ($\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)	L_1 (mm)	
1		1.00	1.0	0.05	250	11
2		0.50	2.0	0.05	250	9
3		0.50	1.0	0.08	250	13
4		0.50	1.0	0.05	250	7
5		0.50	1.0	0.05	280	5
6	1, 2, 3, 4	0.80	1.6	0.07	275	14
7	1, 2, 3, 6	1.05	2.0	0.08	271	17
8	1, 3, 6, 7	1.03	2.0	0.10	265	20
9	3, 6, 7, 8	1.15	2.6	0.09	262	27
10	6, 7, 8, 9	1.30	4.2	0.12	250	30
11	8, 9, 10, 7	2.08	5.0	0.13	245	29
12	8, 9, 10, 11	2.40	5.3	0.10	261	35
13	9, 10, 11, 12	2.52	5.6	0.12	265	29
14	10, 11, 12, 13	1.87	4.9	0.11	260	39
15	12, 13, 11, 14	2.09	5.1	0.10	255	41

* [Co(II)] = $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$; 顶点为单纯形的顶点, 代表实验点, 保留顶点为当前单纯形去掉最劣点后留下的顶点.

一组优化点, 据此在以后的实验中我们选用的最优化条件为: $2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ABEI; $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ H_2O_2 ; $0.10 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ KOH; L_1 长 255 mm.

蠕动泵流速对发光分析反应的影响 泵的流速决定溶液中发光部分在光电倍增管前的盘管中停留时间、试样与反应物混合的均匀程度及扩散情况, 故流速直接决定测定的灵敏度、重现性及记录的发光信号的形状. 实验表明, 流速与管长和峰高有关, 流速增大, 发光强度也增大, 然而, 流速过大, 也可能造成峰高降低, 同时, 由于流速过大, 分析速度快, 试剂的消耗量也大. 综上所述, 本文选择 KOH 液液为 $3.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 、试液为 $6.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的最佳流速.

工作曲线 在选定的实验条件下, Co(II) 浓度在 $5.0 \times 10^{-11} \sim 1.0 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内有良好的线性关系, 校正曲线的相关系数均在 0.999 以上. 为了提高测定的准确度, 工作曲线按 1 个数量级的范围分段绘制, 见图 3.

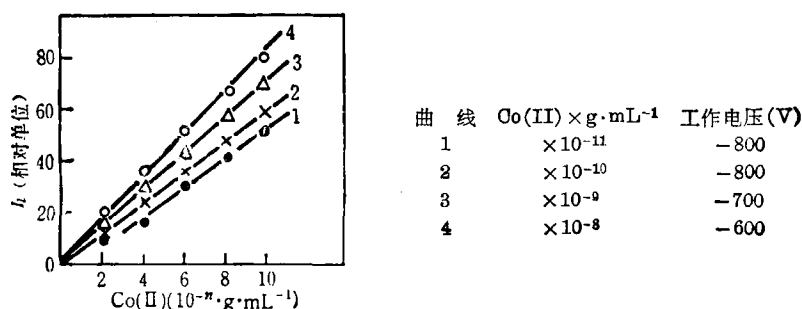


图3 工作曲线

检出限 空白测定的标准偏差为 0.33, 若定义空白测定的标准偏差所对应的浓度的两倍为检出限, 则本法的检出限为 $1.0 \times 10^{-11} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Co(II) .

方法的精密度 为了考察本法的精密度, 用 $5 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Co(II) 的试液进行 13 次重复测定, 得到 RSD 为 1.2%.

共存离子的影响及清除 在试验的 30 种离子中, Sr(II) , Al(III) , Ba(II) , Ni(II) , Sb(III) , Cr(VI) , Mn(VII) , Ag(I) , NH_4^+ , S^{2-} , NO_2^- , NO_3^- , SO_3^{2-} 等离子 100 倍于 ($2 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 下同) Co(II) 浓度不干扰测定, 而 PO_4^{3-} 250 倍, SiO_4^{2-} 150 倍不干扰. 但 Cr(III) , Cu(II) , Pb(II) , Mn(II) , Fe(II) , Fe(III) , Zn(II) , Bi(III) 离子 1 倍于 Co(II) 浓度时就干扰, 经试验得知, Fe(II) 预先氧化成 Fe(III) , 当给试液中加入 $2 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ KF 掩蔽剂时, 对于 $2 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Co(II) 的测定, Fe(III) 10000 倍不再产生干扰. 对于成分复杂水样, 采用巯基棉柱吸附分离^[5], 当在 pH 为 4.5, 流速为 $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下, 使 Hg(II) , Pb(II) , Cu(II) , Zn(II) , Cd(II) , Bi(III) 离子在巯基棉柱上被定量吸附, 而 Co(II) 不被吸附, 从而提高了方法选择性.

γ FIA-CL 法与 FIA-CL 法的比较 γ FIA-OL 法不仅具有节省试剂等优点, 且在一定条件下, 还可以提高灵敏度. 在 FIA-OL 法中, 由于试剂流量较大 ($> 5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$), 注射的样品体积小 ($< 100 \mu\text{L}$). 所以, 当试样液注入试剂载流中, 样品被试剂稀释, 使流路中样品的相对浓度远小于样品的实际浓度. 反之, 在 γ FIA-OL 法中, 当试剂被注射到样品流中, 试剂对样品的稀释效应很小, 使流路中样品的相对浓度变化很小. 因此该法较 FIA-OL 法灵敏度高. 经理论推导^[5], γ FIA-OL 法与 FIA-OL 法在混合流路中样品的相对浓度比为 Qt/V , 式中, Q 是样品流量, V 是试剂注射体积, t 为注射时间. 由理论计算可知, 当 $Q = 2 \sim 7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, $V = 100 \mu\text{L}$, $t = 5 \text{ s}$ 时, γ FIA-OL 法比 FIA-OL 法灵敏度提高约 1.7~5.8 倍, 见表 2.

表2 流量对两种方法相对浓度比的影响

$Q(\text{mL} \cdot \text{min}^{-1})$	1	2	3	4	5	6	7
$C_S(\gamma \text{ FIA})/C_S(\text{FIA})$	0.833	1.67	2.50	3.33	4.17	5.00	5.83

由此可见, 当 Q 较高时 ($Q > 2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$), $\gamma \text{ FIA-OL}$ 法较 FIA-OL 法的灵敏度将有不同程度的提高. 当 Q 较低时, ($Q < 1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$), 则 $\gamma \text{ FIA-OL}$ 法的灵敏度反而不如 FIA-OL 法. 在本文试验条件下 ($Q = 6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$), 试验结果表明, $\gamma \text{ FIA-OL}$ 法较 FIA-OL 法灵敏度提高 5 倍左右, 见表 3. 与上述理论推算结果一致, 为 Fogg^[7] 的实验结论提供了理论和实验的新证据.

表3 $\gamma \text{ FIA}$ 与 FIA 法的发光强度比较

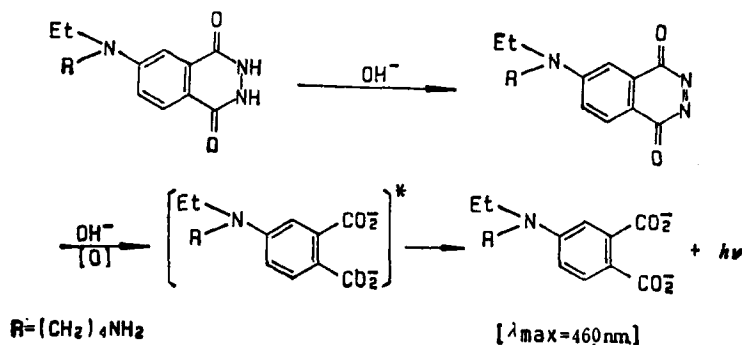
方 法	$\text{Co(II)} (\text{ppb})$		
	0.100	1.00	10.0
$\gamma \text{ FIA-OL}$	22.0	16.5	30.5
FIA-OL	4.50	3.00	7.50
提高倍数	4.90	5.50	4.10

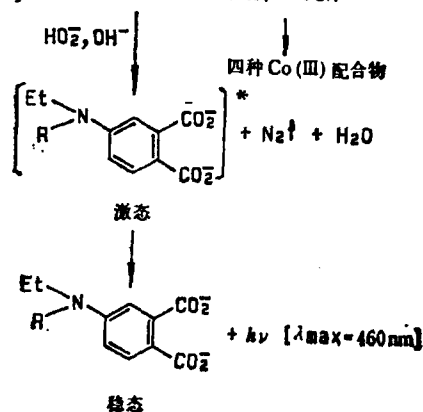
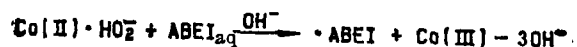
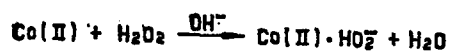
分析应用 本法适用于天然水中 Co(II) 的测定, 表 4 给出样品分析结果.

表4 样品分析结果

水 样 名 称	测得 Co(II) 量 (ppb)	RSD (%)	外加 Co(II) 量 (ppb)	回收 Co(II) 量 (ppb)	回 收 率 (%)
井 水	4.50	1.9	10.0	14.5	100.0
自来水	3.40	1.7	10.0	13.2	98.0
河 水	11.6	1.7	20.0	32.0	102.0

机理初探 前人对 ABEI 发光体系的机理已有报道^[8,9], 认为其总发光机理是在碱性介质中 ABEI 被氧化成叠氮醌, 形成携有取代基的邻苯二甲酸根离子. 氧化过程中产生的化学能被邻苯二甲酸根离子吸收, 使其处于激发状态, 当其价电子从单线第一电子激发态的最低振动能级跃回到基态各个不同振动能级时, 便产生最大辐射波长为 460 nm 的光辐射. 但是, 对 Co(II) 在此过程中起的作用则尚有分歧, Patterson 等认为 Co(II) 在光发反应中起催化作用^[10], 但未提出实验根据, 而 Seitz 等提出 Co(II) 被氧化成 Co(III) ^[11], 但未能检出 Co(III) , 文献 [12] 由实验证明, 反应产物中确有三价钴存在, 并论证了三价钴可能是在发光反应过程中形成的, 同时, 还证明 Co(III) 在产物中以四种配合物形式存在, 我们认为 ABEI 是 Luminol 的衍生物, 其反应机理可表示如下:





参 考 文 献

- [1] Johnso, K. S.; Petty, R. L., *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, 1185.
- [2] 沈建民, 孙铁民, 化学试剂, **1988**, *3*, 178.
- [3] 张帆, 陈国南, 陈恒, 分析化学, **1985**, *13*, 266.
- [4] 张帆, 梅英华, 陈恒, 分析化学, **1988**, *16*, 5.
- [5] 李光浩, 硕士论文, 东北工学院, 沈阳, **1989**.
- [6] 俞穆清, 刘桂琴, 环境科学学报, **1981**, *2*, 180.
- [7] Fogg, A. G., *Analyst*, **1986**, *111*, 859.
- [8] 沈建民, 孙铁民, 沈阳药学院学报, **1986**, *3*, 196.
- [9] Козлов, Ю. Н.; Колтыцин, Ю. В. *Ж. сриз химии*, **1975**, *49*, 2020.
- [10] Chang, C. A.; Patterson, H. H., *Anal. Chem.*, **1980**, *52*, 653.
- [11] Burdo, T. G.; Seitz, W. R., *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 1639.
- [12] 贾生华, 章竹君, 化学学报, **1984**, *42*, 1257.

Chemiluminescence Analysis with Reversed Flow Injection Analysis

Studies on ABEI-H₂O₂-Co(II) Chemiluminescence System and Its Application

Li, Guang-Hao Yu, Zhen-An*

(Department of Chemistry, North-East Institute of Technology, Shenyang, 110006)

Abstract

A new method has been recommended for the determination of trace amounts Co(II) by reversed flow injection analysis. The optimum reaction conditions of ABEI-H₂O₂-Co(II) chemiluminescence system were studied by modified simplex method. The mechanism of this chemiluminescence reaction was studied in detail and a possible reaction mechanism was presented. The selectivity of this chemiluminescence reaction was increased by selecting a proper masking agent. On the basis of above research a chemiluminescence method for the determination of trace amounts Co(II) in natural water has been developed. The detection limit of this method is $1.0 \times 10^{-11} \text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The linear range is from 5×10^{-11} to $1 \times 10^{-7} \text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Recovery is 98—102%. The analysis rate is 100 samples per hour.