

利用罗丹明6G的消荧光反应 测定水中微量磷

宋子台 齐文启 陈树榆 林淑钦

(中国科技大学结构成分分析中心)

摘 要

本文利用磷钼酸盐对罗丹明6G的荧光熄灭作用直接测定了天然水中微量磷。As(V)、Ta(V)、Ga(III)的干扰易于消除,水中其它常见离子不干扰磷的测定。

本法灵敏度高,可达0.22ppb,变动系数为:1.20—4.23%,测定自来水、池塘水及温泉水中的磷均得到了满意的结果。

磷在自然界分布很广,是生物增殖及生长所必需的重要化学成分。水中的磷含量以20ppb为临界值^[1],超过20ppb呈富营养状态,给自然环境带来危害,防止水体的富营养化是环境科学的重要课题之一^[2]。近来,随着工业和科学技术的发展,各类天然水中磷的含量剧增,大量无机磷进入生物体内会引起急性磷中毒,动物某些内脏器官含磷过高会引起显著病变,并出现坏死^[3]。因此,检测环境水中磷的含量具有十分重要的意义。

水中磷的测定多采用磷钼蓝比色法^[4,5],此法As(V)干扰严重,且灵敏度不够高,用极谱法间接测定虽有报导^[6],但因手续冗长,实际应用不多。

本文利用磷钼酸盐对罗丹明6G的荧光熄灭作用直接测定了各类水中的微量磷。本法灵敏度高,再现性好,虽然As(V)、Ta(V)、Ga(III)存在干扰,但易于消除,其它水体中存在的常见离子未见干扰,操作简便,易于掌握,可望成为推广应用的常规手段。

实 验 方 法

仪器 日立850荧光分光光度计,1cm石英池。

试剂 罗丹明6G ($4 \times 10^{-3}M$): 称取0.2000g罗丹明6G (Merck, Art.7600), 溶于100ml水中, 临用时稀释成 $40 \times 10^{-5}M$ 。钼酸铵 (0.7M): 称取钼酸铵 (AR) 64.00g, 溶于50—60℃的热水中, 冷却后定容至500ml。磷标准溶液 (1mg/ml磷): 准确称取于105—110℃干燥4h的 KH_2PO_4 (GR) 0.4394g, 用水溶解后定容至100ml。用前稀释至1μg/ml。HCl (GR) (1:1)。

结 果 与 讨 论

1. 测定条件

罗丹明6G-磷钼酸盐的荧光激发光谱和发射光谱如图1。本法于 EX.WL. 350nm、EM.WL.553.7nm和图1所注的仪器工作条件下测定试样的荧光强度。

2. 酸度的影响

本文研究了0.2—2.5N HCl酸度范围内的荧光熄灭作用,发现在0.5—1.0N范围内消荧光作用最强,而且读数波动不大,超过1.5N消荧光作用减弱,且信号强度受酸度影响较大,因此,选用0.8—0.9N HCl介质。

3. 钼酸铵浓度的选择

研究了0.014—0.14M钼酸铵浓度(含钼)对荧光强度的影响。典型的结果示于图2。

由图2可见,随着钼浓度的增加,荧光强度增加、灵敏度提高,有利于测定低含量的磷,但线性范围变窄,如果测定0—20ppb的磷可选用0.042M浓度的钼。若测定0—40ppb的磷时,可选用0.014—0.028M的钼浓度。

4. 罗丹明6G浓度的影响

探讨了 $0.80\text{—}1.80 \times 10^{-5} \text{M}$ 浓度范围的罗丹明6G对荧光值的影响,结果示于图3。

由图3可见,随着罗丹明6G浓度的增加,灵敏度提高。线性范围变窄。为了在较高灵敏度下得到准确可靠的测定结果,选用 $1.2 \times 10^{-5} \text{M}$ 的罗丹明6G浓度。

5. 共存离子的干扰

河流、湖泊、池塘及自来水等天然水中常见离子对20ppb磷的干扰实验结果表明: Ca^{2+} , SO_4^{2-} 0.4mg/ml; NH_4^+ 0.15mg/ml; K^+ , Al^{3+} 0.03mg/ml; NO_3^- , HCO_3^- 0.06mg/ml以及5ppm的 Cr^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SiO_3^{2-} 等离子未见干扰。而 VO_3^- , Cd^{2+} 10ppm; Br^- , I^- 1.0ppm; Fe^{2+} 0.5ppm; $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, CNS^- 0.6ppm, Tar (酒石酸根) 20ppm; Cit (柠檬酸根) 0.8ppm; W^{6+} , Se^{4+} 0.15ppm; Ge^{4+} 20ppb, As^{5+} 36ppb等均不干扰本法的测定。

另外, 20ppb Ga(Ⅲ)或Ta(V)产生正干扰; As^{5+} 超过72ppb亦产生正干扰; 20ppb的In(Ⅲ)产生负干扰。但可加入0.1ml 1mg/ml的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液予以消除。试验表明,

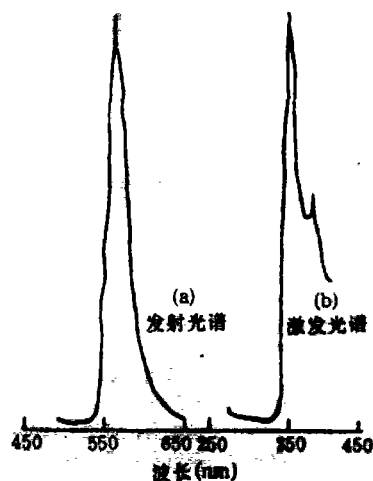


图1 a. 发射光谱, b. 激发光谱
Fig.1 Emission(a) and excitation

(b) spectra of Rh 6G

EX 5.0nm EM 5.0nm

Scan Speed: 60nm/min

Response: 2s

PG Gain: Low

Xe Lamp: 150W

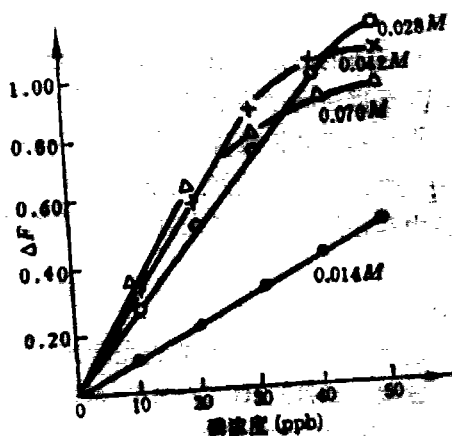


图2 钼酸铵浓度(以钼计)对灵敏度及线性关系的影响。

Fig.2 Effect of molybdenum concentration

10mg/ml的 Na^+ 或 Cl^- 离子也不干扰 20ppb磷的测定。因此, 本法可望用于海水中痕量磷的测定。

6. 水中痕量磷的测定

工作曲线的绘制 在50ml容量瓶中配制 0, 5, 10, 20, 30, 40ppb的磷标准系列, 加入 (1:1) HCl、钼酸铵溶液和 Na_2SO_3 溶液, 使其最终浓度分别为 0.8N, $1.2 \times 10^{-5}\text{M}$ 和 $63\mu\text{g/ml}$, 摇匀后加入罗丹明 6G 溶液, 使其最终浓度为 $1.0-1.2 \times 10^{-5}\text{M}$, 定容后摇匀, 以(1)的测定条件测定荧光值 F 。以磷的浓度对 ΔF 作出工作曲线 (见图 3)。($\Delta F = \text{试剂空白 } F - \text{样品 } F$)。

水样测定 为了防止因水中微生物作用而使磷浓度降低, 并且使水样中多磷酸分解成本法可测定的 PO_4^{3-} 形式, 采样后立刻加入 HCl, 使之保持在 0.05M 的盐酸酸度。

取水样 5—20ml (视磷含量而定) 于 50ml 容量瓶中, 除不加磷标准外, 其余操作同标准工作曲线的制作。由测得的各试样的荧光强度于标准工作曲线上查出水样中磷的浓度。几种水样中的磷的测定结果如表 1 所示。

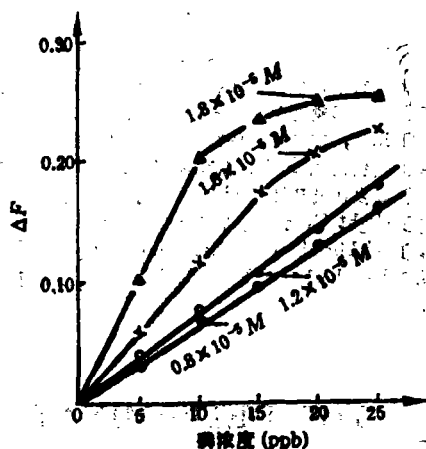


图 3 罗丹明6G的浓度对灵敏度及线性关系的影响

Fig.3 Concentration of Rh 6G

表 1 水中磷的测定结果

Table 1 Determination of phosphorus in natural water

序号	水 样	磷含量 (ppb)	磷标准加入量(ppb)	回收率 (%)
1	合肥自来水	17.64	20.00	96.80
2	稻香楼池塘水	28.27	5.00	100.00
3	科大池塘水	18.96	5.00	100.00
4	逍遥津湖水	20.06	5.00	93.00
5	湖南莲花泉水	29.00	5.00	100.00
6	湖南神泉水	105.40	15.00	100.00
7	湖南羊角泉水	207.80	15.00	93.40
8	湖南温泉水	28.51	5.00	88.20

灵敏度、精密度和回收率

根据日立850荧光光度计的特点, 按 0.01 荧光值计算, 本法的灵敏度可达到 0.22ppb。较罗丹明 B 荧光法提高 20 倍^[7], 比硫胺素荧光法提高 10 倍^[8]。对于自来水 (No.1)、池塘水 (No.3) 和温泉水 (No.8) 各进行 9 次平行测定, 其含量的平均值分别为: 17.64, 18.96 和 28.51 (ppb), 变动系数分别为: 1.20%, 2.21% 和 4.23%,

参 考 文 献

- [1] 堀智孝, 金田吉弘, 藤永太郎, 1982. 分析化学 (日): 31, 592
- [2] 環境の動態ヤシナー講演要旨集, 1984, 东大. p24
- [3] 王凡, 李广生, 1973. 环境地质与健康, 6: 19
- [4] 波钦诺克 X H, 荆家海译, 1981. 植物生物化学分析方法, 科学出版社, p34
- [5] 城乡建设环境保护部, 1983. 环境监测分析方法, p135
- [6] Hight C, 1982. *Talanta*, 29:721
- [7] Kirkbright G F, Narayanaswamy R, West T S, 1971. *Anal. chem.*, 43:1434
- [8] Holzbecher J, Ryan D E, 1973. *Anal. Chim. Acta*, 64:147

1987年7月7日收到.

THE DETERMINATION OF PHOSPHORUS USING THE FLUORESCENCE QUENCHING OF RH6G WITH MOLYBDOPHOSPHATE

Song Zitai Qi Wenqi Chen Shuyu Lin Shuqin

(Central Lab., University of Science and Technology of China)

ABSTRACT

A method of direct fluorometric determination of phosphate in natural water is described. The method is based on a principle that molybdophosphate quenches the fluorescence of Rh6G. As(V), Ta(V) and Ga(III) interfere the determination of phosphates, but these interferents can be removed easily; other anions and cations have no influence on it.

This method has a high sensitivity up to 0.22 ppb, and good reproducibility with a variation coefficient of 1.2—4.23%.