文章编号: 1673- 0062(2009) 04- 0088- 04

结晶紫共振光散射法测定水样中痕量过氧化氢

李海鹏, 李贵荣*, 魏雷雷, 谢爱萍, 黄翔丹

(南华大学 公共卫生学院, 湖南 衡阳 421001)

摘 要: 在 pH 5. 2 HAc- NaAc缓冲溶液和 PVA存在的条件下, H_2O_2在 Fe^{2+}的催化作用下产生的羟自由基• OH, • OH氧化 I^-并生成的 I_3^-, 而 I_3^-又与带正电荷的结晶紫形成缔合物微粒, 导致体系溶液共振光散射明显增强. 在 546. 8 nm处, 共振光强度的改变值 ΔI溶液中 H_2O_2的含量在 0. 017~ 0. 714 μg/mL范围内呈良好的线性关系, 据此建立了一种共振光散射法检测 H_2O_2, 方法检出限 5. 10×10^{-3} μg/mL H_2O_2, 相对标准偏差为 3. 1% ~ 3. 5%, 该方法用于水样的测定, 加标回收率为 96. 1% ~ 102%, 结果满意.

关键词: 结晶紫; 共振光散射; 过氧化氢; 缔合物
中图分类号: O657. 3; O655 文献标识码: A

Determination of Trace Hydrogen Peroxide in Water Sample by Resonance Light Scattering Method with Crystal Violet

LI Hai-peng, LI Gui-rong*, WE Lei-lei,
XIE Ai-ping, HUANG Xiang-dan

(School of Public Health, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract In pH 5. 2 HAc- NaAc buffer solution and the presence of PVA, the • OH formed by Fenton reaction oxidized the excess I^- into I_3^-, and the I_3^- combined with CV^+ to form ion complex particle [$I_3^- - CV^+$] which result in the enhancement of RLS of the system. The maximum RLS wavelength of the system was 546. 8 nm. The enhanced RLS intensity of the systems is proportional to the concentration of the hydrogen peroxide in the range of 0. 017~ 0. 714 μg/mL. The detection limit was 5. 10×10^{-3} μg/mL, the RSD were 3. 1% ~ 3. 5%. This method was used to determine hydrogen peroxide in water sample with satisfactory results, the recoveries were 96. 1% ~ 102%.

Key words crystal violet; resonance light scattering; hydrogen peroxide; association particl

过氧化氢 (H_2O_2)具有杀菌消毒和漂白等功能, 已被广泛用于环境场所的杀菌消毒, 还用于液

收稿日期: 2009- 06- 03
作者简介: 李海鹏 (1985-), 男, 湖南益阳人, 南华大学公共卫生学院硕士研究生. 主要研究方向: 环境中有毒有害物质检测. * 通讯作者.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

体燃料推进剂等.但过量使用过氧化氢将导致工作场所或生活环境产生 H_2O_2污染[1-2]. H_2O_2进入人体后产生的副作用极大,因它极易转变成羟自由基(·OH),它是人体生命活动多种生化反应的毒性代谢产物,也是目前所知活性氧中对生物毒性最强、危害最大的一种自由基.·OH可以与生物体内多种分子作用,发生电子转移参与夺氢及羟基化等反应,使细胞坏死或突变[3].由于过氧化氢常用于饮用水器具的消毒,将导致某些饮用水中残留过氧化氢,这将危害健康.

常量测定过氧化氢的方法是碘量法和高锰酸钾法.现在研究中的微量 H_2O_2测定方法有:高效液相色谱法[4]、流动注射化学发光法[5-6]、荧光法[7]、光度法[8]等等.由于 RLS具有灵敏度高、设备简便、操作方便等的优点,现已经广泛应用于生化、环境、材料、食品等分析领域,且取得了满意的结果[9-12],但研究采用共振光散射(RLS)技术测定过氧化氢的报道很少.本文研究发现在 HAc-NaAc溶液中,用聚乙烯醇(PVA)作为稳定剂的条件下,KI-Fe^{2+}-CV-PVA体系溶液的 RLS较弱,当加入一定量的 H_2O_2后,体系的 RLS强度显著增强,且体系的共振光增强程度在一定范围内与过氧化氢的浓度呈线性关系.由此建立了一种测定微量 H_2O_2的新 RLS方法,并应用于饮用水等水样中痕量 H_2O_2的测定,结果满意.

1　实验部分

1.1　仪器与试剂

F-4500型荧光分光光度计(日本日立公司);UV-8500型紫外可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司);PB-20标准酸度计(德国塞利多斯有限公司);电子分析天平(日本岛津公司);电热恒温水浴箱(上海医用恒温设备厂).

过氧化氢标准储备液:取 1.0 mL的 30% H_2O_2稀释成 1.0 L,用高锰酸钾法标定准确浓度.临用时用水稀释至所需浓度 3.4 μg/mL;

pH 5.2的 0.2 mol/L HAc-NaAc缓冲溶液;2.0×10^{-2} mol/L碘化钾溶液;1.0×10^{-3} mol/L硫酸亚铁铵溶液;1.0×10^{-4} mol/L结晶紫溶液;0.2% 的 PVA溶液.所用试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水.

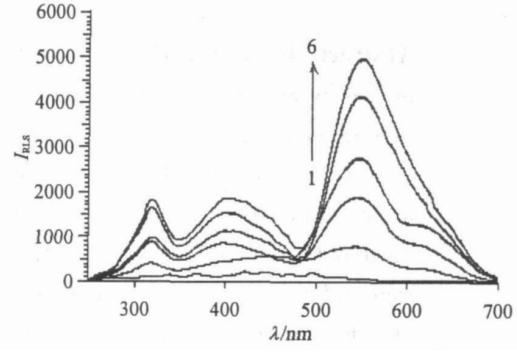
1.2　实验方法

于 10 mL比色管中,依次加入 0.80 mL pH 5.2的 HAc-NaAc缓冲溶液、0.60 mL 1.0×10^{-3} mol/L $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$溶液、1.20 mL 2.0×10^{-2} mol/L KI溶液,准确加入一定量的过氧化氢标准溶液后,再加入 0.80 mL 1.0×10^{-4} mol/L结晶紫溶液和 0.50 mL PVA溶液,以蒸馏水定容,摇匀,于室温(约 20℃)下放置反应 10 min,于荧光分光光度计上,以 $\lambda_{ex}=\lambda_{em}$在 250~700 nm范围内进行同步扫描测得共振光散射光谱.在最大共振光散射峰 546.8 nm处测量溶液的共振光散射强度(I_{RLS}).同时做空白实验测定 I_0,计算 $\Delta I=I_{RLS}-I_0$.激发和发射狭峰宽度始终为 10 nm.

2　结果与讨论

2.1　共振光散射光谱和吸收光谱

按照 1.2的实验方法加入不同量的 H_2O_2后,在 $\Delta\lambda=0$ nm条件下进行同步扫描,得到该体系的共振光散射光谱图(如图 1).由图可知,无 H_2O_2的时体系的共振光散射信号很弱.随着 H_2O_2的加入,共振光散射信号明显增强,产生了新的共振光散射光谱,分别在 322.6、398.2、546.8和 625.5 nm处出现四个光散射峰.其原因可能是 H_2O_2在 Fe^{2+}的催化下氧化 I^-并形成 I_3^-,I_3^-与带正电荷的结晶紫分子(CV^+)形成了离子缔合物.由于分子是非极性的,所以,I_3^-与含有苯环结构的 CV结合形成的缔合物的疏水性增大,从而使体系的共振光散射明显增强.在最大光散射波长 546.8 nm处,该溶液的光散射强度增加值(ΔI_{RLS})与 H_2O_2的加入量在一定范围内呈线性相关.本文选择 546.8 nm共振散射峰进行研究.



1~6. HAc-NaAc+ Fe^{2+} + KI+ CV + PVA+ H_2O_2
(0.000、0.068、0.136、0.204、0.272、0.340) μg/mL

图 1　体系的共振光散射图谱

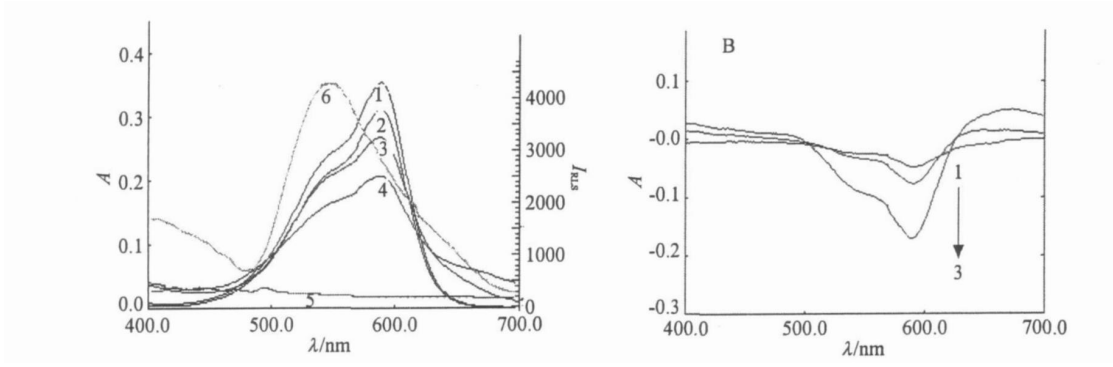
Fig 1　The resonance light scatting spectra of the system

试验测定体系不同组成的吸收光谱见图 2.图 2 A是以蒸馏水为参比,可见在试验条件下,CV于 589 nm处有强吸收峰,此条件下溶液中的

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

CV可能大多数以阳离子 CV^+ 存在(曲线 1). 而无 H_2O_2 的 HAc-NaAc-Fe^{2+}-KI-CV-PVA 溶液吸收曲线形状不变, 吸光度稍有降低(曲线 2), 这可能原因是加入 I^- 后, 少数 I^- 形成 CV^+-I^- 缔合物, 导致 589 nm 处吸光度略有下降, 但影响不大. 而再加入 H_2O_2 后, 吸光度明显减小(曲线 3和 4), 但吸收曲线形状仍不变, 吸光度下降的原因可能是在 Fe^{2+} 的催化下 H_2O_2 氧化 I^- 并形成 I_3^-, I_3^- 与 CV^+ 形成了离子缔合物, 使自由 CV^+ 量大大降低. 由图 2A 可见, 散射峰(曲线 5和 6)处于最大吸收吸收带左侧, 符合共振散射的一般规律[10], 属于共振光散射峰.

图 2 B是以无 H_2O_2 时 HAc-NaAc-Fe^{2+}-KI-CV-PVA溶液作为参比调零所测定体系的吸收光谱. 如图可见, H_2O_2 的加入在 589nm 处出现负值峰. 由于该光谱扣除了 CV^+ 吸收的影响, 因而可认为是生成的离子缔合物的吸收光谱, 进一步体现了溶液中自由 CV^+ 的变化情况.



(A): 1. CV + HAc-NaAc 2~4. HAc-NaAc-Fe^{2+}-KI-CV-PVA+H_2O_2 (0.000, 0.204, 0.272) μg/mL 5~6. HAc-NaAc-Fe^{2+}-KI-CV-PVA+H_2O_2 (0.000, 0.272) μg/mL

(B): 1~3. HAc-NaAc-Fe^{2+}-KI-CV-PVA+H_2O_2 (0.136, 0.204, 0.272) μg/mL

图 2 吸收光谱和散射光谱

Fig 2 Absorption spectra and resonance light scatting spectra(5~6)

2.2 反应条件的选择

2.2.1 缓冲体系及酸度的影响

分别试验了 HAc-NaAc、Tris-HCl、H_3BO_3-NaOH、KH_2PO_4-NaOH 四种缓冲体系, 结果表明, HAc-NaAc 缓冲体系 (pH = 5.2) 最稳定. 本实验选择 HAc-NaAc作为反应介质. 按试验方法加入不同体积的 HAc-NaAc进行试验, HAc-NaAc溶液用量为 0.80 mL时 ΔI_{RLS}值最大.

2.2.2 CV用量的影响

研究了 CV 用量对反应体系 ΔI_{RLS}的影响, 结果表明: 当结晶紫用量不足时, 体系缔合反应不完全, ΔI_{RLS}值偏低, 随着 CV 用量的增加, ΔI_{RLS}值增大; 而结晶紫溶液过量时, ΔI_{RLS}值亦降低, 并且溶液呈混浊, 这可能是由于高浓度时 CV 易形成二聚体, 使其不易与 I_3^- 缔合反应. 当 1.0×10^{-4} mol/L CV 的加入量在 0.7~1.0 mL范围内时, ΔI_{RLS}较大, 故本试验选用 CV 的用量为 0.80 mL.

2.2.3 KI用量的影响

研究了 KI的用量对反应体系的影响, 结果表明: KI应适当过量, 一方面能促使被测物 H_2O_2 反应完全, 另一方面对 I_2 起助溶作用, 以保证反应中所生成的 I_2 都能形成 I_3^-. 浓度为 2.0×10^{-2} mol/L KI溶液当加入量在 1.10~1.50 mL之间时, ΔI_{RLS}值较大, 故本实验选用 KI的用量为 1.20 mL.

2.2.4 其他试剂用量的影响

研究了的 $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$ 用量对反应体系的影响, 结果表明: 当不加入 Fe^{2+} 时, 体系的 ΔI_{RLS} 很小, 而而用量过多时, ΔI_{RLS}也偏小且不很稳定. 浓度为 1.0×10^{-3} mol/L Fe^{2+} 加入量在 0.20~0.80 mL之间时, ΔI_{RLS}值最大, 故本实验选用 $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$ 得用量为 0.60 mL.

加入 PVA 后体系稳定性显著改善. 原因可能是当 I_3^- 与 CV^+ 形成缔合物后, 电荷被中和, 缔合物疏水性增强, 导致体系水溶液不稳定, 溶液放久后会析出沉淀. 而 PVA 的加入可能形成胶束, 使缔合物微粒更加稳定, 微粒不易凝聚析出. 实验表明, 0.2% PVA 适宜用量为 0.40~0.80 mL, 试验选择加入 0.50 mL.

2.2.5 反应温度及时间的影响

在 20~50 ℃范围内, 实验考查该反应温度对 ΔI_{RLS}的影响. 结果表明, 温度过低时反应速度慢

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

及反应不完全;但 30℃后继续升温, ΔI_{RLS}值随着温度的升高而减小,说明升温时分子热运动增加,分子间作用力和疏水作用减弱,导致离子缔合物稳定性降低.故选择室温(约 20℃)下进行.

反应时间实验结果表明,反应在 10 min后,溶液的 I_{RLS}值基本稳定,并保持在 30 min内溶液的 I_{RLS}基本不变,所以,本实验选择在反应 10 min后开始测定,在 30 min内完成.

2 2 6　线性范围、检出限及精密度

在试验确定的最佳条件下,以 ΔI_{RLS}对 H_2O_2的浓度作图,绘制标准曲线.结果表明,在 546 8 nm波长处, ΔI_{RLS}与 H_2O_2浓度(ρ)之间在 0 017~ 0 714 μg/mL范围内具有良好的线性关系,线性回归方程为: ΔI_{RLS} = 13875ρ(μg/mL) - 46 95,相关系数 r= 0 9993.

以 11次空白测定值标准偏差的 3倍除以斜率(3 S, /K)计算该方法的检出限为 5 10×10^{-3} μg/mL.对 0 204和 0 476 μg/mL两种 H_2O_2标准溶液各进行了 6次平行测定,相对标准偏差分别为 3 1%和 3 5%.说明该方法的精密度良好.

2 2 7　共存离子的影响

在 10 mL比色管中加入 H_2O_2含量为 1 70 μg根据可能共存的实际情况,考察共存物质的干扰.结果表明,相对误差的绝对值小于 5 0%范围内, 1000倍的 K^+、Na^+、Cl^-, 500倍的 Ca^{2+}、CO_3^{2-}、SO_4^{2-}, 100倍的 Mg^{2+}、Zn^{2+}、Ni^{2+}、F^-, 50倍的 Co^{2+}、Al^{3+}、NO_3^-, 20倍的 Pb^{2+}、Mn^{2+}等不产生干扰.

2 3　样品分析

准确移取适量试样溶液于 10 mL比色管中,按本实验方法测定市场购买 2种矿泉水和雨水中的 H_2O_2的含量,结果见表 1.

表 1　样品分析结果(n= 5)

Table 1　The determination results of H_2O_2 in the samples (n= 5)

样品	测定值 /(μg· mL^{-1})	加标量 /μg	加加标后测定值 /μg	回收率 /%
矿泉水 1号	未检出	2 04	1 96	96 1
矿泉水 2号	未检出	2 04	2 07	102 0
雨水	未检出	2 04	1 97	96 4

3　结论

该方法研究了 H_2O_2与碘化钾、硫酸亚铁铵、结晶紫反应生成配合物能使体系的共振光散射强度增强的实验方法.由于本方法具有灵敏度高、精密度好、操作简单、反应条件容易控制的特点,且实验证明可以用于水样的 H_2O_2的测定,由此建立了共振光散射法测定的 H_2O_2的新方法.

参考文献:

[1] 李振中,蒋治良,杨　光.罗丹明 6G缔合微粒共振散射光谱法测定过氧化氢[J].光谱学与光谱分析, 2005, 25(8): 1286- 1288

[2] 梁爱惠,蒋治良,陶慧林.一个灵敏测定过氧化氢的吖啶红共振散射光谱新方法[J].光谱学与光谱分析, 2007, 27(1): 120- 122

[3] 王颖臻,丁中涛,曹秋娥.偶氮胭脂红 G共振光散射法测定羟自由基的研究及应用[J].分析实验室, 2007, 26(12): 68- 71

[4] 胡俊明,石文鹏,林少彬.高效液相色谱法测定化妆品中过氧化氢的方法研究[J].中国卫生检验杂志, 2003, 13(5): 593- 596.

[5] 黄　英,章竹君,何德勇.微流动注射芯片化学发光法测定雨水中过氧化氢[J].分析化学, 2005, 7(7): 958- 960.

[6] 李晓霞,申丽华,漆红兰.毛细管固定过氧化物酶流动注射化学发光法测定过氧化氢的研究[J].分析测试学报, 2008, 27(4): 419- 422

[7] 高甲友.荧光光度法测定痕量过氧化氢[J].理化检验 -化学分册, 2008, 44(2): 189- 190

[8] 王金刚,王西奎,国伟林.亚甲蓝光度法测定羟自由基[J].理化检验 - 化学分册, 2007, 43(6): 495- 497.

[9] 李原芳,黄承志,胡小莉.共振光散射技术的原理及其在生化研究和分析中的应用[J].分析化学, 1998, 26(12): 1508- 1505.

[10] 冯玉怀,杨丙雨,乔广安,等.共振光散射技术在无机分析中的应用[J].冶金分析, 2008, 28(3): 20- 29

[11] 贺冬秀,李贵荣,陈运生.结晶紫共振光散射法测定水样中痕量铬(Ⅵ)[J].分析科学学报, 2006, 22(3): 336- 338

[12] Liang A H, Zhou S M, Jiang Z L. A simple and sensitive resonance scattering spectral method for determination of hydroxyl radical in Fenton system using rhodamine S and its application to screening the antioxidant[J]. Talanta, 2006, 70: 444- 448

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net