

SBDR 显色剂固相萃取光度法测烟草中的铅^{*}

阮琼¹, 迟绍明¹, 王锐², 李毅³

(1. 云南师范大学 化学化工学院, 云南 昆明 650092; 2. 云南昭通师范高等专科学校, 云南 昭通 650075;

3. 云南昆明市第三十中学, 云南 昆明 650091)

摘要: 研究了对磺酸基苯基亚甲基若丹宁(SBDR)与铅的显色反应, 在 pH 为 4.0 的 HAc-NaAc 缓冲介质中, 吐温-60 存在下, 该络合物可被 WatersSep-Pak-C18 固相萃取小柱萃取, 小柱上富集的络合物用无水乙醇洗脱后在乙醇介质中, 体系 $\lambda_{\max} = 560 \text{ nm}$, $\epsilon = 1.12 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. 可用分光光度法测定, 铅含量在 0~6 $\mu\text{g}/50 \text{ mL}$ 内符合比尔定律, 方法用于烟草中铅含量的测定, 结果令人满意.

关键词: 对磺酸基苯基亚甲基若丹宁; 铅; 固相萃取光度法; 烟草

中图分类号: O 657.32 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2008)01-0079-04

由于烟草消费的迅速增加和烟草工业的迅速发展, 人们对烟草科研的投入也随之增加. 在烟草育种、栽培、病虫害防治、烟叶调制和发酵、烟叶加工、卷烟工艺配方等多个领域都展开了广泛的研究. 特别是近些年来随着人们对吸烟与健康问题的关注和反吸烟运动的日益高涨, 烟草有害成分的研究越来越引起人们的关注. 特别烟草中重金属元素测定是有害成分分析的重点内容^[1,2].

重金属元素测定的方法主要有原子吸收法, 电感耦合等离子体发射光谱法, 电感耦合等离子体质谱法和分光光度法等^[3,4], 主要是烟草中的 Pb, Hg, As 等重金属元素的分析. 由于光度法分析仪器设备简单, 操作成本低, 分光光度法仍然是应用最广泛的方法. 但是烟草及其辅料中重金属元素含量很低, 普通光度法灵敏度达不到测定的要求, 一般需对待测样品进行富集. 溶剂萃取是最常用的传统样品富集方法. 但是溶剂萃取存在需大量使用有机溶剂, 处理时间长, 操作步骤多, 在处理过程中易造成待测组分损失或分解等缺点. 方法不但容易产生较大的分析误差, 而且需大量使用有机溶剂, 有机溶剂大多有毒且易挥发, 使用时会影响操作人员的身体健康, 加上传统的熔样方法费时、费力、费料

及污染周围的环境等^[5,6].

本论文研究了 SBDR 与铅的显色反应, 并选用样品前处理新技术——固相萃取法及样品处理新技术及微波消化熔样. 克服了常规有机萃取带来的污染等缺点, 加快了分析速度, 提高了富集倍数及灵敏度, 建立了测定烟草及卷烟辅料中痕量铅的一种新方法^[7~9].

1 实验部分

1.1 主要仪器和试剂 UV-2401 紫外可见分光光度计(日本岛津公司): 容量为 0.5 mL 的 1 cm 半微量比色皿;

Waters Sep-Park C₁₈ 固相萃取小柱(1 cc/30 mg): 柱材料为十八烷基键合硅胶(美国 Waters 公司), 小柱使用前先用 6 mL 的乙醇活化, 再用水洗去乙醇, 即可用于样品富集;

铅标准储备液: 2.0 mg/mL, 使用时稀释成 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准工作液; HAc-NaAc 缓冲溶液: pH=4.0;

吐温-60 溶液: 1.5% (V/V);

SBDR 溶液: SBDR 由实验室自行合成^[10]. 用 95% 乙醇配制成 0.05% 溶液 (V/V);

* 收稿日期: 2007-07-16

基金项目: 云南省自然科学基金资助项目(2006E0032M).

作者简介: 阮琼(1964-), 女, 回族, 云南人, 副教授, 主要从事分析化学方面的研究.

NaOH 溶液:30%水溶液;

蒸馏水:用 Milli-Q50(美国 Millipore 公司)超纯水仪处理,电阻率 $\geq 18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$;

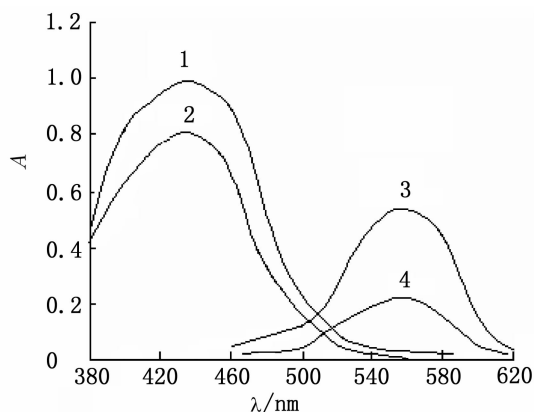
其余所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法 取铅标准液或样品(总铅含量 $\leq 6.0 \mu\text{g}$)于 50 mL 比色管中,加入 3 mL SBDR 溶液,用 30% NaOH 溶液调 pH 约为 4,然后加入 4 mL pH 4.0 的 HAc-NaAc 缓冲溶液,3 mL 1.5% 吐温-60 溶液,充分摇匀,放置 10 min,显色液以 15 mL/min 的流速通过预活化好的 Waters Sep-Pak-C₁₈固相萃取小柱,富集完后小柱上富集的络合物以 6 mL/min 的流速用 1.0 mL 乙醇洗脱,以试剂空白为参比,用容量为 0.5 mL 的 1 cm 半微量比色皿,于 560 nm 处测定吸光度。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱 吸收曲线见图 1,显色体系最大吸收为 560 nm,试剂空白最大吸收为 440 nm,体系对比度较大。 $\Delta\lambda > 60 \text{ nm}$,试剂空白对显色体系无干扰。

2.2 显色酸度的影响 SBDR 与 Pb(II)在弱酸性介质中显色,酸度对显色反应的影响结果表明在 pH 为 1.5~5.5 范围内吸光度最大且稳定,因此实验选用 pH 为 4.0 的 HAc-NaAc 缓冲溶液控制酸度,缓冲溶液用量在 4 mL 左右可把 pH 控制在稳定范围,实验选用加入 4 mL。



- 1: SBDR-Tween-60 试剂空白对蒸馏水;
- 2: SBDR 试剂空白对蒸馏水;
- 3: SBDR-Pb(II)-Tween-60 显色体系对试剂空白;
- 4: SBDR-Pb(II)显色体系对试剂空白。

图 1 吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra

2.3 表面活性剂的选择及用量 试验了常见表面活性剂对显色反应的影响,结果见表 1. 实验表明阴离子表面活性剂和阳离子型表面活性剂对体系无增敏作用,加入反而会降低灵敏度,非离子型表面活性剂对体系有明显增敏作用,试验了乳化剂 OP,吐温-20,吐温-60,吐温-80 等非离子型表面活性剂对体系的增敏作用,效果以吐温-60 最好,1.5%吐温-60 用量在 1~6 mL 内吸光度均稳定,实验选用 3 mL。

表 1 表面活性剂对 Pb(II)-SBDR 显色反应的影响

Tab. 1 The effect of surfactants on Pb(II)-SBDR chromogenic system

表面活性剂	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$	$\epsilon/(\times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$
空白	530	6.20
OP	555	8.98
Tween-60	560	11.2
Tween-20	545	9.22
Tween-60	550	8.43
SDS	525	6.35
CTMAB	535	6.18
CPB	525	5.95

2.4 显色剂用量的选择 实验表明 0.05% SBDR 用量在 2~8 mL 内吸光度最大且稳定,因此,实验选用 3 mL。

2.5 显色温度及体系的稳定性 体系在室温下迅速显色,放置 10 min 后吸光度可达到稳定,显色完全后体系至少可稳定 6 h,当络合物固相萃取用乙醇洗脱后,显色体系在乙醇介质中至少可稳定 10 h。

2.6 固相萃取条件

2.6.1 SPE 柱的选择和使用寿命 由于过柱显色液的 pH 为 4.0,在该 pH 值下普通键合硅胶固相萃取小柱就有较好的萃取效果,实验选用 Waters Sep-Park C₁₈固相萃取小柱,实验表明,该固相萃取小柱在该条件下使用超过 100 次后仍然能保持良好的柱效。

2.6.2 过柱流速的选择 试验了过柱流速对络合物固相萃取的影响,分别取 $10 \mu\text{g}$ 的铅标准溶液,按实验方法显色后以不同的流速过固相萃取柱,流速对铅萃取回收率的影响结果表明流速越慢,络合物在小柱上的保留越好,流速过高会导致络合物和固定相还未完全作用就流出,影响回收率,当流速超过 35 mL/min 时,络合物明显穿漏,回收率下降.综合回收率和分析时间考虑,本试验选用过柱流速为 15 mL/min .

2.6.3 萃取容量的测定 实验表明显色体系中 $\text{Pb(II)} - \text{SBDR}$ 络合物和过量的 SBDR 都能完全保留在小柱上,为了测定小柱的萃取容量,配制质量分数为 0.01% 的显色剂(缓冲液和表面活性剂的浓度和实验方法保持一致)以 15 mL/min 的流速过柱,实验发现过柱溶液体积达 220 mL 时显色剂开始穿漏,说明显色剂在小柱上达到饱和,由此可算出小柱对显色剂的萃取容量为 22 mg .用 SBDR 和 Pb(II) 按摩尔比为 $2:1$ (即络合比)的比例反应制备络合物,然后配制质量分数为 0.01% 的络合物溶液(缓冲液和表面活性剂的浓度和实验方法保持一致)以 15 mL/min 的流速过柱,实验发现过柱溶液体积达 160 mL 时显色剂开始穿漏,说明络合物在小柱上达到饱和,由此可算出小柱对络合物的萃取容量为 16 mg .在本实验条件下,所用显色剂量和样品中铅的量均远远低于小柱的萃取容量,因此在实际样品分析时不会出现待测物穿漏.

2.6.4 洗脱溶剂和洗脱流速的选择 实验了不同洗脱剂洗脱小柱上的有色络合物,发现用甲醇、乙醇、丙酮、乙腈、丙酮、四氢呋喃等极性有机溶剂均能把小柱上富集的络合物完全洗下,并且洗脱剂用量可控制在较小体积(1.0 mL 左右).由于乙醇无毒,挥发性弱且价格便宜,因此本实验选用乙醇洗脱,在乙醇中含 1% 的醋酸可增加洗脱过程中络合物的稳定性,因此实验选用乙醇(内含 1% 的醋酸)为洗脱剂.

实验发现对于洗脱相同量的络合物,所需洗脱剂用量和小柱上富集的络合物有关,还和洗脱流速有关,小柱上富集的络合物越多,所需洗脱剂的量越大,对于洗脱相同量的络合物,则洗脱流速越大,把络合物完全洗下所需的洗脱剂的量越大.取 $20 \mu\text{g}$ 的铅,按实验方法显色后以 15 mL/min 的流速过柱,然后以不同的流速用乙醇洗脱,洗脱流速对

洗脱剂用量的影响见图 2,综合富集倍数和分析时间考虑,本试验选用洗脱流速为 6 mL/min .实验表明,对于 $20 \mu\text{g}$ 的铅,按选定条件显色后过柱,柱上富集的络合物和过量的试剂用 1.0 mL 左右的洗脱剂完全洗下.实际分析中样品中铅的量远远小于该试验量;因此在实际分析时,用 1 mL 的洗脱剂以 6 mL/min 流速洗脱可保证使小柱上富集的络合物和过量的试剂完全洗下.

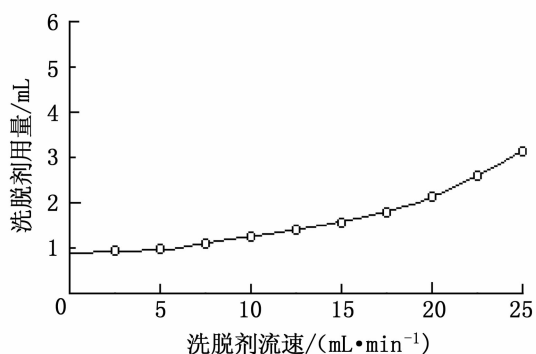


图2 流速对洗脱剂体积的影响

Fig.2 The effect of flow rate on eluent volume

2.7 工作曲线 在选定实验条件下,铅质量浓度在 $0 \sim 6 \mu\text{g}/50 \text{ mL}$ 内符合比尔定律, $A = 0.0131 + 0.467\rho$, $r = 0.9998$,从回归方程可算出摩尔吸光系数 $\epsilon = 1.12 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

2.8 共存离子的影响 对于 $1.0 \mu\text{g Pb}^{2+}$, 相对误差为 $\pm 5\%$, 下列量离子不干扰 (mg): K^+ , Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} , NH_4^+ (8); PO_4^{3-} , Mg^{2+} , Al^{3+} , B(III) , SO_4^{2-} , V(V) (1.5); Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mo(VI) , Zn^{2+} , SiO_3^{2-} (0.6); Cr^{3+} , Ti(IV) , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Sn(VI) , As(V) (0.01); Hg(II) , Pt(II) , Ag^+ , Pd^{2+} (0.006), 常见元素允许量较大,体系选择性较好.

3 样品分析及结果

取样品 0.5 g 于聚四氟乙烯微波消化罐中,加入 2 mL 浓硝酸和 5 mL $30\% \text{ H}_2\text{O}_2$, 于微波消化炉中消化 10 min ; 消化完后于电热板上加热蒸发到近干,用 $10 \text{ mL HNO}_3(1+20)$ 溶解残渣,转入 50 mL 比色管中,按试验方法测定,并用原子吸收法作对照,结果见表 2^[11,12].

表 2 样品分析及结果

Tab.2 Determination results of Samples

样品	测定值/(ng·g ⁻¹)	AAS 法/(ng·g ⁻¹)	RSD/% (n = 5)	标准回收率/% (加 Pb ²⁺ 0.5 μg)
卷烟	187	194	2.3	97
烟叶	188	194	2.2	98
木瓜浸膏	106	98.4	2.0	102
大枣浸膏	29.5	26.1	1.9	98
甘油	27.5	26.1	1.8	97

4 结 论

铅的光度法测定常用的试剂有:脲类试剂,三氮烯类试剂,8-羟基喹啉类试剂,杂环偶氮类试剂,三苯甲烷类碱性染料,氨基酸类试剂,卟啉类试剂和若丹宁类试剂等.碱性染料离子缔合物体系,卟啉类试剂和三氮烯类试剂具有很高的灵敏度,摩尔吸光系数 ϵ 超过 $2 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$,杂环偶氮类试剂和三氮烯类试剂也有 ϵ 超过 10^5 的体系;但是这些体系均在碱性介质中显色,选择性较差,和这些体系相比 SBDR 具有更好的选择性;与其它若丹宁类试剂比较,SBDR 具有水溶性好,酸性介质中显色的优点,并且选择性和灵敏度也较高.

本实验在 SBDR 与铅显色反应的基础上,还研究了 C₁₈固相萃取小柱对显色络合物的固相萃取富集技术,固相萃取高倍数富集(富集倍数达 50 倍)弥补了吸光光度法灵敏度相对较低的缺点,同时采用微波消化熔样新技术,可测定样品中 ng/mL 级含量的样品.该方法的建立为烟草添加剂中低含量铅的分析提供了方法.

参考文献:

- [1] 过乃蓉.卟啉类化合物在分析化学中的应用[J].环境化学,1987,6(1):85-87.
[2] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会.水和废

水监测分析方法[M].3版.北京:中国环境科学出版社,1998.

- [3] 黄章杰,杨光宇,尹家元,等.5-(3-甲基-2-吡啶)亚甲基若丹宁光度法测定金[J].冶金分析,1999,19(1):13-14.
[4] 李崇宁,李祖碧,徐其亨,等.钇(III)-钼酸盐-乙基罗丹明 B-PVA 体系缔合显色反应研究[J].云南大学学报:自然科学版,2000,22(2):134-135.
[5] 蔡汝秀,何治柯,刘志红.分光光度分析[J].分析实验室,2001,20(5):96-108.
[6] 王云秋,孙嘉彦,石素萍,等.表面活性剂存在下苯重氮基偶氮苯与汞显色反应[J].理化检验(化学分册),1996,32(2):53-55.
[7] 张帆.无机分析新有机试剂的合成[M].北京:海洋出版社,1984.
[8] 潘教表.显色剂在光度分析中的应用[M].上海:上海科技出版社,1988.
[9] 阮琼,彭翠珍.正交试验设计法研究 DCDAM 试剂与钒(V)的显色反应[J].理化检验(化学分册),2004,40(11):669-670.
[10] 李忠,黄海涛,刘思远,等.对磺酸基苯基亚甲基若丹宁光度法测定醋酸甘油酸中的铅[J].光谱实验室,2004(4):438-440.
[11] 徐其亨,李强,王海涛.二安替比林甲烷含氧衍生物的合成及分析应用[J].冶金分析,1994,14(6):5.
[12] 曾云鸷,张华山,陈震华.现代化学试剂手册(四分册).无机离子显色剂[M].北京:化学工业出版社,1989.

(下转第 86 页)