

高碘酸钾-鲁米诺体系中一些 后化学发光反应的研究

马明阳^{1,2}, 吕九如¹

(1. 陕西师范大学化学与材料科学学院, 西安 710062; 2. 西安文理学院化学系, 西安 710065)

摘要 研究了葡醛内酯、盐酸美司坦和重酒石酸去甲肾上腺素等 10 种物质在高碘酸钾-鲁米诺体系中的后化学发光现象、后化学发光反应的动力学、化学发光光谱、荧光光谱以及其它相关性质, 提出了其可能的发光机理; 在优化的分析条件下建立了这 10 种物质的后化学发光分析方法, 初步构建了高碘酸钾-鲁米诺后化学发光分析体系。

关键词 后化学发光反应; 高碘酸钾; 鲁米诺

中图分类号 O657.39

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)03-0436-05

后化学发光反应是近年来提出的关于化学发光反应的新概念。所谓后化学发光反应, 是指一些物质(包括有机物和无机物)在某一个化学发光反应完成后的溶液体系中引发的一种新的化学发光反应, 它有许多新奇的特点。后化学发光反应的研究对于丰富化学发光分析的理论, 充实和拓展化学发光分析研究的内容都具有重要的意义。关于后化学发光反应的研究已有一些文献报道^[1~5]。其中有后化学发光反应体系的发现, 也有具体物质后化学发光分析方法的研究。

本文比较系统地研究了高碘酸钾-鲁米诺体系中的后化学发光反应。对多种有机物进行了考察, 发现了葡醛内酯、盐酸美司坦、异烟肼、盐酸多巴胺、盐酸林可霉素、氢化可的松、阿莫西林、氨基比林、肾上腺素和重酒石酸去甲肾上腺素盐等有机物在高碘酸钾-鲁米诺体系中的后化学发光行为; 探讨了其反应机理; 优化了反应条件, 给出了基本的分析参数, 评估了将高碘酸钾-鲁米诺体系后化学发光反应用于对这些物质进行化学发光分析的可行性, 从而在理论和应用的结合上构建了一个新的化学发光分析体系——高碘酸钾-鲁米诺后化学发光分析体系。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

标准溶液(1.00×10^{-3} g/mL)的配制: 分别称取 0.1000 g 葡醛内酯、盐酸美司坦、异烟肼、盐酸多巴胺、盐酸林可霉素、氢化可的松、阿莫西林、氨基比林、肾上腺素、重酒石酸去甲肾上腺素(中国药品生物制品检定所)放入 50 mL 烧杯中, 用少量水溶解后, 定容于 100 mL 容量瓶中, 作为各自的贮备液, 使用时用水逐级稀释至所需浓度。

鲁米诺储备液(1.0×10^{-2} mol/L)的配制: 称取 1.77 g 鲁米诺(陕西师范大学分析科学研究所合成), 用 10 mL 1.0 mol/L 的氢氧化钠(分析纯)溶液溶解, 加水定容于 1000 mL 容量瓶中, 室温下放置 7 d 后使用, 使用时用氢氧化钠溶液稀释至所需浓度。

高碘酸钾储备液(1.0×10^{-2} mol/L)的配制: 称取 1.15 g 高碘酸钾(分析纯)溶于热水中, 冷却后用水定容于 500 mL 容量瓶中, 使用时用水适当稀释。实验用水为二次去离子水。

IFFS-A 型多功能化学发光检测器(西安瑞迈电子科技有限公司), MCDR-A 型多功能化学分析数据处理系统(西安瑞迈电子科技有限公司), BPCL 微光测量仪(中国科学院生物物理研究所), 970CRT

收稿日期: 2006-08-16.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20275023)资助。

联系人简介: 吕九如(1944 出生年), 男, 教授, 博士生导师, 从事发光分析研究. E-mail: ljr@snnu.edu.cn

荧光分光光度计(上海分析仪器总厂).

1.2 实验过程

流动注射化学发光分析系统如图 1 所示, a, b 和 c 3 条流通管分别连接样品溶液、鲁米诺溶液和高碘酸钾溶液. 将高碘酸钾溶液先与鲁米诺溶液经三通管混合, 在混合管中充分反应. 待基线稳定后, 通过进样阀将样品溶液注入到高碘酸钾与鲁米诺反应后的液流中, 产生后化学发光反应. 记录化学发光信号, 以峰高定量.

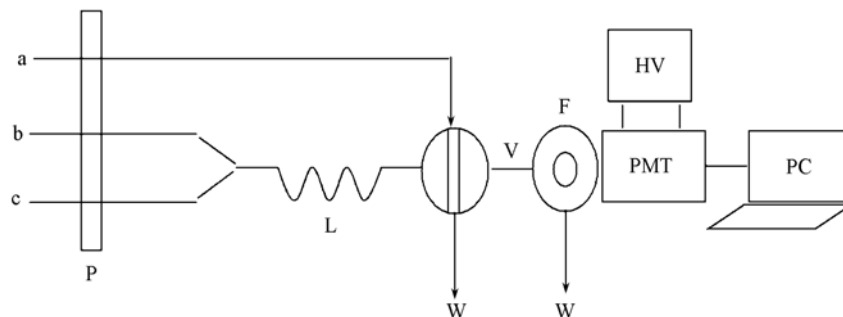


Fig. 1 Schematic diagram of CL flow system

a: Sample solution; b: luminol solution; c: potassium periodate solution; P: peristaltic pump; V: injection valve;

F: flow cell; PMT: photomultiplier tube; HV: high voltage; PC: personal computer; W: waste.

2 结果与讨论

2.1 分析物在高碘酸钾-鲁米诺体系中的后化学发光行为

以葡醛内酯为代表物质, 用 IFFS-A 型多功能化学发光检测器的静态测量系统研究了葡醛内酯在高碘酸钾-鲁米诺体系中的后化学发光行为.

图 2 给出了高碘酸钾-鲁米诺化学发光反应和葡醛内酯在高碘酸钾-鲁米诺体系中后化学发光反应的动力学曲线. 当将 1.0 mL 5.0×10^{-4} mol/L 高碘酸钾溶液注入到 2.0 mL 1.0×10^{-3} mol/L 鲁米诺溶液中时, 立即发生了一个化学发光反应(峰 1), 6 s 后反应结束, 化学发光信号回到基线. 此时, 向上述反应结束后的溶液中注入 1.0 mL 2.0×10^{-4} g/mL 的葡醛内酯溶液, 又引发了一个新的很强的化学发光反应(峰 2), 25 s 后反应结束, 化学发光信号再次回落至基线.

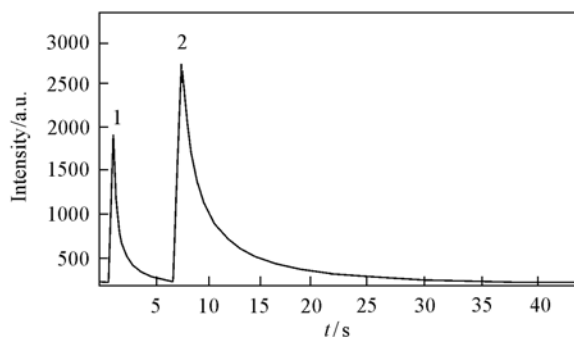


Fig. 2 Kinetic curve of the chemiluminescence reactions

Peak 1: Injecting 1.0 mL of 1.0×10^{-3} mol/L potassium periodate solution into 1.0 mL of 3.0×10^{-4} mol/L luminol solution;

peak 2: injecting 1.0 mL of 5.0×10^{-4} g/mL glucuronolactone solution into the above reaction mixture solution.

在同样条件下, 用水代替葡醛内酯溶液进行试验, 结果未检测到化学发光信号. 表明葡醛内酯在高碘酸钾-鲁米诺体系中有后化学发光行为, 其引发的后化学发光反应是一个较慢的过程.

用盐酸美司坦、异烟肼、盐酸多巴胺、盐酸林可霉素、氢化可的松、阿莫西林、氨基比林、肾上腺素和重酒石酸去甲肾上腺素进行类似的试验, 结果发生了同样的现象. 表明所试验的物质在高碘酸钾-鲁米诺体系中引发的都是后化学发光反应.

2.2 实验条件的优化

由于利用的是分析物在高碘酸钾-鲁米诺体系中的后化学发光反应, 所以应在高碘酸钾和鲁米诺充分反应以后再加入样品溶液进行测量. 为了使高碘酸钾和鲁米诺的反应充分进行, 在高碘酸钾溶液与鲁米诺溶液的混合点和进样阀之间连接了混合管(长度 L 见表 1, 内径 0.8 mm). 若混合管太短, 则高碘酸钾和鲁米诺反应不充分, 测量时基线较高, 信噪比较低; 若混合管太长, 则影响分析效率. 固定

流速为 1.4 mL/min, 在 15 ~ 240 cm 范围内对混合管的长度进行了选择.

高碘酸钾-鲁米诺化学发光反应及其后化学发光反应均在碱性条件下进行. 通过改变鲁米诺溶液中氢氧化钠的浓度来调节反应介质的碱度. 对鲁米诺溶液中氢氧化钠的浓度在 0.0010 ~ 1.0 mol/L 范围内进行了考察.

分别在 1.0×10^{-6} ~ 1.0×10^{-2} mol/L 和 5.0×10^{-5} ~ 5.0×10^{-2} mol/L 范围内对鲁米诺溶液及高碘酸钾溶液的浓度进行了考察.

通过以上试验, 选择的各分析物的最佳分析条件(可得到最大信噪比的条件)列于表 1.

Table 1 Optimum experimental condition for the determinations of the analytes

Analyte	L/cm	$c[\text{Luminol alkalinity}(\text{NaOH})]/$ (mol · L ⁻¹)	$c(\text{Luminol})/$ (mol · L ⁻¹)	$c(\text{Potassium periodate})/$ (mol · L ⁻¹)
Glucuronolactone	120	0.30	3.0×10^{-4}	1.0×10^{-3}
Mecysteine hydrochloride	80	0.08	1.0×10^{-5}	1.0×10^{-3}
Isoniazid	90	0.02	6.0×10^{-4}	2.5×10^{-4}
Dopamine hydrochloride	100	0.06	1.0×10^{-3}	1.0×10^{-3}
Lincomycin hydrochloride	80	0.01	6.0×10^{-6}	1.0×10^{-2}
Hydrocortisone	60	0.02	1.0×10^{-3}	1.0×10^{-5}
Amoxicillin	40	0.10	5.0×10^{-6}	1.0×10^{-3}
Antondine	80	0.05	5.0×10^{-6}	2.0×10^{-3}
Adrenaline hydrochloride	100	0.10	1.0×10^{-4}	1.0×10^{-4}
Noradrenaline bitartrate	40	0.20	1.0×10^{-4}	5.0×10^{-4}

2.3 分析参数

在选定最佳条件下得到的各种分析物的基本分析参数如表 2 所示.

Table 2 Analytical parameters for the analytes

Analyte	Linear range/ (g · mL ⁻¹)	Regression equation	Correlation coefficient, r	Detection limit/ (g · mL ⁻¹)
Glucuronolactone	5.0×10^{-8} — 1.0×10^{-5}	$I = 4.26 \times 10^8 \rho + 411$	0.9993	2×10^{-8}
Mecysteine hydrochloride	1.0×10^{-8} — 5.0×10^{-7}	$I = 2.93 \times 10^8 \rho + 36.1$	0.9991	3×10^{-9}
Isoniazid	1.0×10^{-9} — 4.0×10^{-7}	$I = 2.93 \times 10^9 \rho + 36.1$	0.9993	6×10^{-10}
Dopamine hydrochloride	1.0×10^{-9} — 8.0×10^{-7}	$I = 7.77 \times 10^9 \rho - 1.0$	0.9984	4×10^{-10}
Lincomycin hydrochloride	1.0×10^{-6} — 1.0×10^{-5}	$I = 76.8 \times 10^6 \rho + 41.2$	0.9962	3×10^{-7}
Hydrocortisone	1.0×10^{-6} — 1.0×10^{-4}	$I = 18.3 \times 10^6 \rho + 6.4$	0.9963	4×10^{-7}
Amoxicillin	1.0×10^{-6} — 1.0×10^{-4}	$I = 4.92 \times 10^6 \rho + 10.6$	0.9978	3×10^{-7}
Antondine	8.0×10^{-7} — 5.0×10^{-5}	$I = 0.36 \times 10^7 \rho + 6.9$	0.9995	3×10^{-7}
Adrenaline hydrochloride	1.0×10^{-9} — 5.0×10^{-7}	$I = 25.1 \times 10^9 \rho + 82.0$	0.9951	3×10^{-10}
Noradrenaline bitartrate	1.0×10^{-7} — 6.0×10^{-5}	$I = 3.10 \times 10^7 \rho + 46.7$	0.9955	3×10^{-8}

对于质量浓度为 1.0×10^{-7} g/mL 的葡醛内酯、 1.0×10^{-7} g/mL 的盐酸美司坦、 5.0×10^{-8} g/mL 的异烟肼、 1.0×10^{-7} g/mL 盐酸多巴胺、 5.0×10^{-5} g/mL 盐酸林可霉素、 1.0×10^{-5} g/mL 氯化可的松、 1.0×10^{-5} g/mL 阿莫西林、 1.0×10^{-6} g/mL 氨基比林、 5.0×10^{-8} g/mL 肾上腺素和 1.0×10^{-6} g/mL 重酒石酸去甲肾上腺素标准溶液分别进行 11 次平行测定, 其相对标准偏差依次为 2.3%, 1.7%, 1.6%, 3.2%, 2.6%, 2.9%, 3.1%, 4.0%, 2.4% 和 2.8%.

2.4 样品分析

选取未见化学发光分析方法报道的葡醛内酯作为分析对象进行测定, 以评估所研究的后化学发光反应体系应用于实际样品分析的可行性.

在选定的实验条件下, 考察了常用的药物赋形剂、添加剂以及一些常见离子对质量浓度为 1.0×10^{-7} g/mL 的葡醛内酯溶液测定的干扰情况. 结果表明, 100 倍的 CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^- 及 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, 10 倍的乳糖、葡萄糖、果糖、麦芽糖、可溶性淀粉、糊精、苯甲酸钠、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 及 Fe^{3+} , 1 倍的 Ca^{2+} 均不干扰测量结果. 这都远大于药物片剂中这些物质的实际含量. 所以, 本文建立的方法可以直接用于药片中葡醛内酯含量的测定.

取葡醛内酯片剂(标示量为 50 mg/片)20 片, 准确称量后研细混匀, 求得每片的平均质量. 准确称

取相当于一片的质量, 溶解后定容为 1000 mL, 取 1.0 mL 清液再稀释至 1000 mL, 然后按分析步骤测定发光强度, 并做标准方法^[8]对照试验. 测定结果列于表 3. *t* 检验结果表明, 在 95% 的置信水平上, 本法的测定结果与药典方法测定结果无显著性差异.

Table 3 Results of the determination for glucuronolactone troches (mg/tablet)

Sample	Present method *	RSD(%)	Pharmacopoeia method *	RSD(%)	Relative error(%)
1	49	2.9	50.2	0.7	-2.4
2	51	3.1	49.6	0.6	2.8
3	49	2.8	50.6	0.9	-3.2

* Average of three measurements.

3 后化学发光反应的机理

以葡醛内酯为代表物质, 探讨了高碘酸钾-鲁米诺体系后化学发光反应的机理. 固定鲁米诺的浓度为 3.0×10^{-4} mol/L, 将等体积的高碘酸钾和鲁米诺溶液按照摩尔比 4:1 (高碘酸钾过量) 和 1:4 (鲁米诺过量) 混合. 待充分反应后, 取两种溶液各 1.0 mL, 分别加入 1.0 mL 5.0×10^{-4} g/mL 葡醛内酯溶液, 结果都观察到了后化学发光现象. 实验结果表明, 由于充分反应后的这两种不同配比溶液的共同组分不是反应物高碘酸钾和鲁米诺, 而是高碘酸钾和鲁米诺反应的生成物, 因此可以认为, 由葡醛内酯引发的后化学发光反应可能与高碘酸钾和鲁米诺反应的生成物有关, 也可能与溶液中存在的其它物质有关.

根据在碱性溶液中鲁米诺的还原电位以及 $\text{IO}_4^-/\text{IO}_3^-$ 的氧化电位, 初步判断反应中高碘酸钾的还原产物是碘酸钾. 为了确定反应产物, 参照文献^[6,7]有关检测碘酸钾的方法, 将 1 mL 1.0×10^{-2} mol/L 高碘酸钾溶液和 4 mL 1.0×10^{-2} mol/L 鲁米诺溶液混合, 待充分反应后, 用稀盐酸酸化混合溶液, 再加一滴淀粉指示剂, 混合均匀, 混合溶液颜色无变化; 然后通入二氧化硫气体. 结果混合溶液变蓝, 表明在高碘酸钾和鲁米诺化学发光反应中, 高碘酸钾的还原产物确为碘酸钾[鲁米诺的氧化产物是 3-氨基邻苯二甲酸根离子(3-AP)^[9]].

在 970CRT 荧光分光光度计上对 5.0×10^{-5} g/mL 葡醛内酯溶液进行荧光扫描, 观察到的最大荧光波长为 455 nm, 把 1 mL 3.0×10^{-4} mol/L 碘酸钾加到 1 mL 1.0×10^{-4} g/mL 葡醛内酯溶液中时, 455 nm 处的荧光峰与 5.0×10^{-5} g/mL 葡醛内酯溶液相比明显降低. 由此可见, 碘酸钾能够与葡醛内酯反应, 其反应显然是一个氧化-还原过程. 在 970CRT 荧光分光光度计上对反应后的溶液进行荧光扫描, 结果未观察到其它荧光. 表明碘酸钾和葡醛内酯反应的产物无荧光性质, 可见, 其反应产物不可能是后化学发光反应的发光体.

用改装后的 970CRT 荧光分光光度计绘制了高碘酸钾-鲁米诺化学发光反应和此体系中葡醛内酯后化学发光反应的化学发光光谱(图 3), 从图 3 中可以看出, 两个化学发光反应的最大发射波长均为 425 nm, 光谱的半高宽度也相同, 表明后化学发光反应与高碘酸钾-鲁米诺化学发光反应具有相同的发光体. 高碘酸钾-鲁米诺化学发光反应的发光体是 3-AP^[9], 因而可以确定, 所研究的后化学发光反应的发光体就是 3-AP.

根据以上结果推测葡醛内酯在高碘酸钾-鲁米诺体系中后化学发光反应的机理是: 在碱性条件下, 高碘酸钾和鲁米诺反应, 生成激发态的 3-氨基邻苯二甲酸根离子(3-AP*)和碘酸钾, 当 3-AP* 回到基态时, 产生化学发光. 回到基态的 3-AP 存留于反应后的溶液之中. 当把葡醛内酯加入到此反应后的溶液之中时, 溶液中的碘酸钾与葡醛内酯发生氧

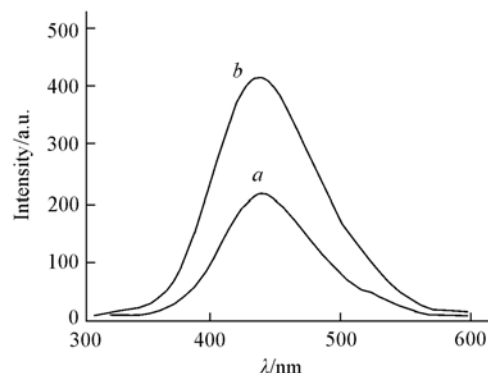
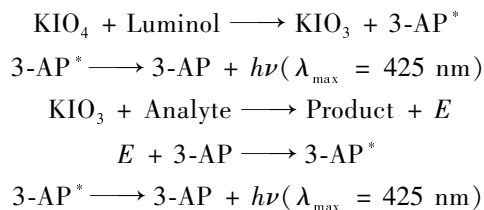


Fig. 3 Chemiluminescence spectra of the reactions

a. (3.0×10^{-4} mol/L luminol + 1.0×10^{-3} mol/L KIO_4) + 5.0×10^{-4} g/mL glucuronolactone; b. 3.0×10^{-4} mol/L luminol + 1.0×10^{-3} mol/L KIO_4 .

化-还原反应, 释放出一定能量. 溶液中存留的 3-AP 吸收反应释放出来的能量而再次被激发. 3-AP* 回到基态时产生后化学发光.

用盐酸美司坦和异烟肼进行同样的实验, 结果得出了相同的结论. 因此高碘酸钾-鲁米诺体系后化学发光反应的机理可简单表示如下:



参 考 文 献

- [1] Feng Na, Lü Jiu-ru, He Yun-hua, *et al.*. Luminescence[J], 2005, **20**: 266—270
- [2] LIU Wen-Xia(刘文侠). Acta Chimica Sinica(化学学报)[J], 2004, **62**(14): 1323—1326
- [3] XU Yi(徐溢), TANG Shou-Yuan(唐守渊), XIA Zhi-Ning(夏之宁), *et al.*. Journal of Instrumental Analysis(分析测试学报)[J], 2001, **20**(5): 59—61
- [4] LIU Qing-Hui(刘清慧), LÜ Jiu-Ru(吕九如), FENG Na(冯娜). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2006, **27**(6): 1036—1041
- [5] LI Bao-Xin(李保新), ZHANG Xiao-Yan(张小燕), ZHANG Cheng-Xiao(张承孝). Anal. Chim. Acta[J], 2006, **575**(2): 212—216
- [6] China Pharmacopia Committee(中国药典委员会), Chinese Pharmacopeia, Vol. II(中国药典, 二部)[M], Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 811
- [7] CHEN Shou-Chun(陈寿椿), TANG Chun-Yuan(唐春元), YU Zhao-De(于肇德). Important Reactions of Inorganic Chemistry, 3rd Ed. (重要无机化学反应, 第三版)[M], Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1994: 1666
- [8] China Pharmacopia Committee(中国药典委员会), Chinese Pharmacopeia, Vol. II(中国药典, 二部)[M], Beijing: Chemical Industry Press, 1995: 855—856
- [9] White E. H., Bursery M. M.. J. Am. Chem. Soc. [J], 1964, **86**(5): 941—942

Investigation of Post-chemiluminescence Reaction in Potassium Periodate-luminol System

MA Ming-Yang^{1,2}, LÜ Jiu-Ru^{1*}

- (1. College of Chemistry and Materials Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China;
2. Department of Chemistry, Xi'an University of Arts and Science, Xi'an 710065, China)

Abstract The post-chemiluminescence (PCL) reactions of glucuronolactone, mecysteine hydrochloride, isoniazid, dopamine hydrochloride, lincomycin hydrochloride, hydrocortisone, amoxicillin, antondine, adrenaline hydrochloride and noradrenaline bitartrate in potassium periodate-luminol system were discovered. The possible mechanism for the PCL reaction was discussed *via* the investigation of the CL kinetic characteristics, the chemiluminescence reaction (CL) spectra and the fluorescence spectra of some related substances. The flow injection PCL method for the determination of the 10 kinds of substances was established. The post-chemiluminescence analytical system based on potassium periodate-luminol reaction was established.

Keywords Post-chemiluminescence reaction; Potassium periodate; Luminol

(Ed.: A, G)