

流动注射化学发光法快速测定中药黄芪中的痕量铬

焦艳娜 任小蓉 马红琼 李晖 庞国伟

(四川大学, 化学工程学院 成都 610065)

摘要 利用 Cr^{3+} 对鲁米诺— H_2O_2 化学发光反应的催化作用, 流动注射化学发光法的优点, 建立测定 Cr^{3+} 的新方法, 并通过 H_2SO_3 的还原作用, 使 Cr^{6+} 还原为 Cr^{3+} , 从而实现总铬的测定。确定此方法的最佳条件: 负高压 500V; 鲁米诺浓度为 $2.50 \times 10^{-4} \text{mol/L}$; 过氧化氢的浓度为 $4.00 \times 10^{-2} \text{mol/L}$, 鲁米诺溶液的 pH 为 12, 铬(III) 试液的 pH 为 5。线性范围为 $1.0 \times 10^{-6} \text{mg/mL} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{mg/mL}$, 检出限 ($S/N=3$) 为 $6.60 \times 10^{-7} \text{mg/mL}$, 对浓度为 $6.00 \times 10^{-6} \text{mg/mL}$ Cr^{3+} 的标准溶液进行 11 次平行测定, 其相对标准偏差为 0.6%。该法成功地实现对中药黄芪样品中痕量铬的测定。

关键词 流动注射 化学发光 黄芪 铬

微量元素与人体健康密切相关, 近年来中药中的微量元素的研究受到人们广泛的关注。铬(III) 是人体必须的微量元素之一, 对维持正常血糖, 胆固醇和脂肪酸代谢有影响。而铬(VI) 对于人类和动物是有高度刺激性和毒性的^[1], 所以寻求一种快速的具有高灵敏度的测量中药中金属含量分析方法对其药理探讨有指导作用。已报道的铬的分析方法有原子吸收光谱法^[2]、电位滴定法^[3]、原子发射光谱法^[4]、毛细管电泳法^[1, 5]、离子色谱法^[6]、化学发光分析法^[7, 8]。但用流动注射化学发光法快速测定中药中痕量铬却未见报道。流动注射化学发光法作为一种有用的痕量分析技术, 因为具有操作简单, 灵敏度高, 分析速度快, 线性范围宽等优点, 在药物分析领域得到迅速发展^[9, 10]。据此本文建立流动注射化学发光测定黄芪中痕量铬的新方法, 结果令人满意。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

IFFM-E 型流动注射化学发光仪 (西安瑞迈电子科技有限公司); PHS-3C 型精密 pH 计 (成都世纪方舟科技有限公司); 万分之一电子天平 (北京赛多利斯仪器有限公司)。

鲁米诺贮备液: $1.00 \times 10^{-2} \text{mol/L}$; H_2O_2 储备液: $4.00 \times 10^{-2} \text{mol/L}$; 铬(III) 标准储备液 $1.00 \times 10^{-4} \text{g/mL}$; NaOH 溶液: $1.00 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ 。试剂均为分析纯, 所用水均为二次蒸馏水。

1.2 测定方法

图 1 中主泵 (P1) 速为 30r/min, 副泵 (P2) 速为 40r/min, 管径为 0.8mm, 光电倍增管的高压

为 -500V。将鲁米诺与过氧化氢溶液经主泵送入混合阀混合后送入换向阀, 再将铬(III) 液经过副泵送入换向阀, 三者混合后进入流通池, 产生化学发光, 发光强度与铬(III) 液的浓度在一定范围内呈线性关系, 根据发光强度计算铬(III) 的含量。

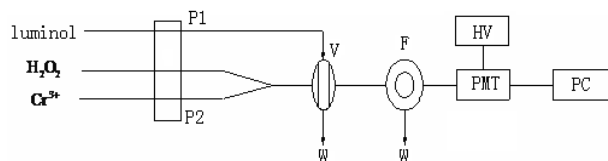


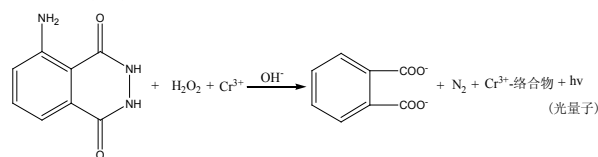
图1 流动注射化学发光流程示意图

P. 蠕动泵; V. 六通阀; F. 流通池; W. 废液; HV. 负高压; PMT. 光电倍增管; PC. 数据处理系统

2 结果与讨论

2.1 化学发光的动力学特征及其发光机理

Cr(III) 催化 H_2O_2 氧化鲁米诺发光机理如下:



当检测 Cr(III) 浓度为 $1.00 \times 10^{-4} \text{mg/mL}$ 时, 在选择的最佳条件 (鲁米诺浓度为 $2.50 \times 10^{-4} \text{mol/L}$, 过氧化氢的浓度为 $4.00 \times 10^{-2} \text{mol/L}$, 介质溶液的 pH 为 12, 铬(III) 试液的 pH 为 5) 下, 从反应开始到光强达到最大值不到 5s, 不到 12s 发光强度衰减至 0, 可见 Cr(III) 催化 H_2O_2 氧化鲁米诺是一个快速化学发光反应, 其化学动力学曲线 (见图 2)。

2.2 实验条件的选择

2.2.1 泵速与负高压的选择 固定鲁米诺与 H_2O_2 溶液的浓度, 分别改变主副泵的转速进行试验, 发

现当主泵转速为 30r/min, 副泵转速为 40r/min 时, 信噪比最高, 而且峰形好。同上发现当负高压为 500V 时最好。

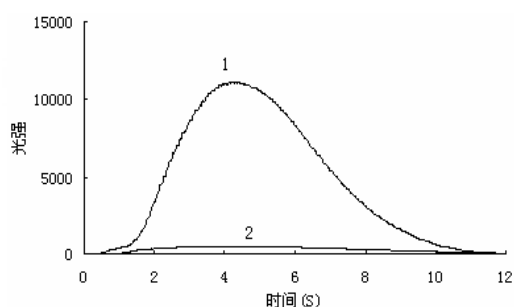


图2 化学发光动力学曲线图

1. 鲁米诺-过氧化氢-铬(III)体系;
2. 鲁米诺-过氧化氢-水体系

2.2.2 鲁米诺分析液浓度及 pH 值的选择 实验考察鲁米诺浓度在 $2.50 \times 10^{-7} \sim 2.50 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 范围内, 对发光强度的影响 (见图 3), 由图 3 可知当鲁米诺浓度低于 $2.50 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 时发光强度随着鲁米诺浓度的增大而增强, 当鲁米诺浓度达到 $2.50 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 时该体系的发光强度最大, 继续增大鲁米诺浓度发光强度反而降低, 故本文选择的鲁米诺浓度为 $2.50 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。

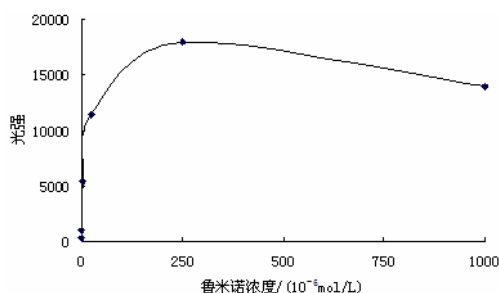


图3 鲁米诺浓度对化学发光强度的影响

鲁米诺溶液的 pH 值对发光体系的光强度影响很大, 在 pH 在 9~14 之间考察鲁米诺溶液的 pH 值对发光强度的影响, 结果表明, 当 pH=12.0 左右时, 发光强度最强, 继续增大碱性, 发光强度反而减弱 (见图 4)。故实验选择鲁米诺溶液的 pH 值为 12。

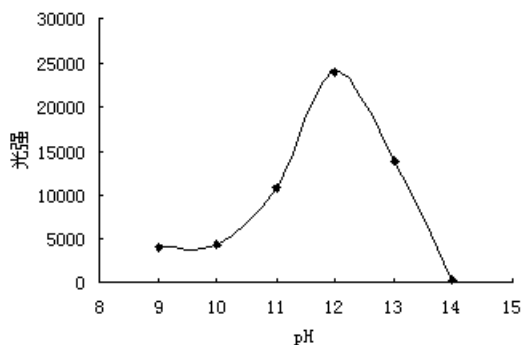


图4 鲁米诺溶液的pH值对化学发光强度的影响

2.2.3 过氧化氢浓度的选择 本实验考察过氧化氢浓

度在 $4.00 \times 10^{-5} \sim 4.00 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 范围内变化时对该体系化学发光强度的影响。结果表明, 当过氧化氢浓度为 $4.00 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 时, 可得到最大发光强度, 高于此值, 发光强度会下降 (见图 5a)。这可能是当过氧化氢浓度小于 $4.00 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 时, 过氧化氢氧化鲁米诺的反应速度较慢, 且氧化反应进行地很不完全, 因此产生的发光强度较弱, 随着过氧化氢浓度的增大, 发光强度也在逐渐增强。当过氧化氢浓度增大到 $4.00 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 时发光强度达到最大值。但由图 5b 可知, 过氧化氢浓度为 $4.00 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 时, 所得曲线的信噪比很差。所以综合考虑, 本文选定过氧化氢的浓度为 $4.00 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 。

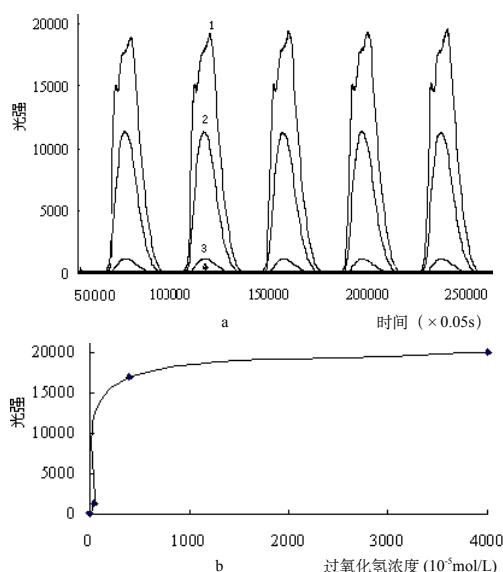


图5 H_2O_2 浓度对化学发光强度的影响

- a. H_2O_2 浓度 (mol/L): $1.4.0 \times 10^{-2}$; $2.4.0 \times 10^{-3}$; $3.4.0 \times 10^{-4}$; $4.4.0 \times 10^{-5}$

2.2.4 铬(III)试液酸度的选择 考察铬(III)试液的 pH 在 3~6 之间时对发光强度的影响 (见图 6), 结果表明: 过高或过低的 pH 值都不利于体系灵敏度的提高, 铬(III)试液的 pH 为 5 时可得到最大的发光值, 而且信号稳定、重现性好。本文中, 铬(III)试液的 pH 选定为 5。

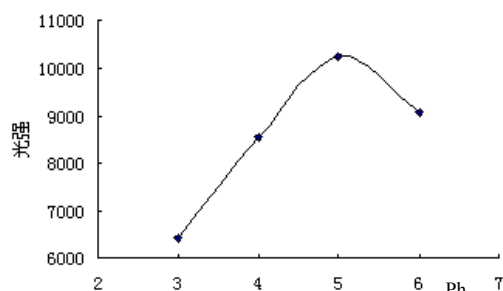


图6 铬(III)试液pH对化学发光强度的影响

2.3 校准曲线、检出限和相对标准偏差

在最佳实验条件下, 铬(III)试液在 $1.00 \times 10^{-}$

$7 \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{mg/mL}$ 浓度范围内, 化学发光强度与其浓度呈较好的线性关系, 为提高测定的灵敏度和精确度, 工作曲线按数量级 10^{-9} 和 10^{-8} 回归方程分别为 $y = 186.3x + 640.57$; $y = 3532.8x + 1286.8$, 相关系数 (R^2) 分别为 0.9945; 0.9988。本方法的检出限 ($S / N=3$) 为 $6.60 \times 10^{-7} \text{mg/mL}$ 。对浓度为 $6.00 \times 10^{-6} \text{mg/mL}$ 铬(III)的标准溶液进行 11 次平行测定, 其相对标准偏差为 0.6%。

2.4 干扰离子试验

在上述选择的最佳实验条件下, 试验 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 几种离子对测定的干扰情况, 其中 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 浓度为 Cr(III) 的 100 倍时均不干扰, K^{+} 、 Na^{+} 浓度为 Cr(III) 的 1000 倍时均不干扰, Co^{2+} 有严重干扰, 但加入 EDTA 作为掩蔽剂, 可以将半倍浓度的 Co^{2+} 完全掩蔽。

3 样品分析

3.1 黄芪的前处理

准确称取 0.5000g 样品置于烧杯中, 加入浓硝酸 5mL, 加高氯酸 2mL, 放置 12h 以上, 用万用电热炉加热烧杯进行赶酸, 直到只剩下烧杯底薄薄的一层液体 (约 1mL), 加入 5mL 亚硫酸, 煮沸 10min, 冷却后加水约 40mL 左右, 利用酸度计用 1.0mol/L NaOH 调节 pH 约 4.6, 用少量水转入 50mL 容量瓶中, 用高纯水定容待测。

3.2 样品测定

经处理过的样品根据需要稀释成各种浓度, 在最佳实验条件下进行测定 (见表 1)。

表 1 样品测定结果

样品号	测定值 (mg/mL)	RSD (%)	加入量 (mg/mL)	测定值 (mg/mL)	回收率 (%)
1	1.008×10^{-8}		1.002×10^{-11}	1.006×10^{-11}	100.4
2	1.004×10^{-8}		0.995×10^{-11}	0.985×10^{-11}	99.0
3	1.005×10^{-8}		1.010×10^{-11}	0.997×10^{-11}	98.7
平均值	1.006×10^{-8}	0.55			99.4

4 结论

对中药中微量元素含量进行分析研究, 尤其是严格控制中药中重金属元素含量, 制定统一方便有效的分析测定标准和方法, 保证药品质量和用药安全迫在眉睫。其中检测方法的选择性与灵敏度是非常关键的因素。利用该方法实现对黄芪中痕量铬的定量分析, 结果令人满意。实验表明, Cr^{3+} -luminol-

H_2O_2 化学发光体系在鲁米诺浓度为 $2.50 \times 10^{-4} \text{mol/L}$, 过氧化氢的浓度为 $4.00 \times 10^{-2} \text{mol/L}$, 鲁米诺溶液的 pH 为 12, 铬(III)试液的 pH 为 5 的条件下, 化学发光强度最强。该方法操作简单、快速、检测限低、结果准确可靠, 从而拓宽流动注射化学发光法的应用范围, 对黄芪中其他微量金属的研究, 以及其他中药中微量金属的研究提供新思路。但该方法最大的不足是共存元素的干扰大, 但加入掩蔽剂或与现代分离技术联用可克服这一问题。流动注射化学发光分析方法用于中药分析还需进一步研究和完善。

参考文献

- Wei-Ping Yang, Zhu-Jun Zhang, Wei Deng. Simultaneous, sensitive and selective on-line chemiluminescence determination of Cr(III) and Cr(VI) by capillary electrophoresis[J], *Analytica Chimica Acta*, 2003, 485: 169~177
- I. López-García, B. Merino Meroño, N. Campillo, M. Hernández-Córdoba. On-line filtration system for determining total chromium and chromium in the soluble fraction of industrial effluents by flow injection flame atomic absorption spectrometry[J], *Anal Bioanal Chem*, 2002, 373: 98~102
- 魏林恒, 董学芝等, 电位滴定法测定工业废水中铬 [J], *理化检验 (化学分册)*, 2004, 40(8): 462~464
- Gil R A, Cerutti S, Gasquez J A, et al. On-line preconcentration and determination of chromium in parenteral solutions by inductively coupled plasma optical emission spectrometry[J], *Spectrochim Acta B*, 2005, 60(4): 531~535
- Zuliang Chen, Ravendra Naidu, et al. Separation of chromium (III) and chromium (VI) by capillary electrophoresis using 2,6-pyridinedicarboxylic acid as a pre-column complexation agent[J], *Journal of Chromatography A*, 2001, 927: 219~227
- 严利民, 胡文武, 离子色谱法测定水中六价铬 [J], *中国热带医学*, 2007, 7(1): 87~88
- Waraporn Som-Aum, Jirasak Threeprom, Haifang Li, et al. Determination of chromium(III) and total chromium using dual channels on glass chip with chemiluminescence detection. *Talanta*, 2007, 71: 2062~2068
- Jian-Xiu Du, Yin-Huan Li, and Rong Guan, Chemiluminescence determination of chromium(III) and total chromium in water samples using the periodate-lucigenin reaction [J], *Microchim Acta*, 2007, 158: 145~150
- Yao H, Tang Y, Li Y H, et al. Flow Injection Chemiluminescence Determination of Cephalosporin Antibiotics by Their Enhancing Effects on Luminol-Potassium Periodate System[J], *Anal. Lett.*, 2003, 36 (14): 2975~2983
- Du J X, Shen L H, Lu J R. Flow injection chemiluminescence determination of epinephrine using epinephrine-imprinted polymer as recognition material[J], *Anal. Chim. Acta.*, 2003, 489(2): 183~189

(下转第 33 页)

Port.vi 和 VISA Read.vi 将串口输入缓存中的数据字节数全部读出。同时, 利用 Tick Count.vi 计算整个读取命令帧的时间间隔, 如果超过了给定的超时时间 (这里设为 10000ms), 程序会报超时错误。另外, 采用一个 while 循环结构, 对读出字符串的校验码进行核对, 如果不正确, 重新读取, 直到读出的校验码与发送的相符, 中止循环 (见图 5)。顺序第 3 帧, 添加一个子函数, String 转 Modbus Data Unit.vi, 其目的就是将读出的所有字符串按照 Modbus 消息命令帧的格式将从机地址与功能代码和数据量 (Modbus Data Unit) 分开, 为下一步解码提供函数

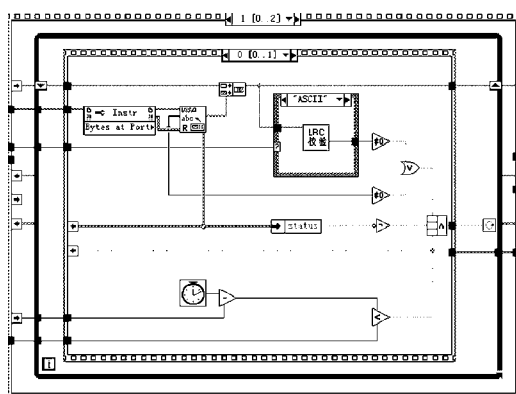


图5 串口命令接收子函数程序框图

入口参数。(3) 字符串解码子函数: 根据 Modbus 协议命令帧的功能代码, 返回给用户实际读出的寄存器的值。

2.3 关闭串口结束通讯

3 结语

本文在 labview7.1 软件平台上, 利用 RS232 转 RS485 串口, 成功开发基于 Modbus 协议的串口通讯模块, 可以方便地实现上位 PC 机与多台下位 PLC 的主从式串行通讯, 对各个从机的内存单元进行读写操作。同时该模块是一个完整的程序模块, 可以不加任何修改用于其他虚拟仪器的开发, 操作简单方便, 运行可靠, 该模块已经成功地用于某型号生物发酵罐发酵过程集散控制系统, 运行良好可靠。

参考文献

- 1 MODICON, Inc. Modbus Protocol Reference Guide[Z]. 1996
- 2 杨乐平, 李海涛, 杨磊. labview 程序设计与应用【M】, 北京: 电子工业出版社, 2005
- 3 陈金平, 吴文英. 基于 Labview 的 Modbus 协议两种校验码的实现方法【J】, 仪表技术, 2005 (2): 42~43
- 4 谢启, 顾启民, 涂水林等. 基于 Labview 的 Modbus RTU 通讯协议的实现【J】, 煤炭机械, 2006, 27 (12): 95~97

The realization of the serial communication protocol based on labview

Yuan Xue Chen Bin Lu Zhongwei Guan Guoqiang
(Jiangsu University Zhenjiang 212013)

Abstract The paper firstly gives a brief introduction to the modbus communication protocol, then expatiates the realization of Master-Slave serial communication programmer with LabVIEW as the development tool and PC as the super computer. It is proved that the programmer can be taken into practice in the test and control system based on LabVIEW.

Key words LabVIEW PLC serial communication Modbus protocol

(上接第 26 页)

The rapid determination of trace chromium in medicine astragalus by flow injection chemiluminescence method

Jiao Yanna Ren Xiaorong Ma Hongqiong Li Hui Pang Guowei
(College of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract A new and effective method chemiluminescence-flow injection is established. It is based on the measurement of the light emitted from the Cr^{3+} -catalysed oxidation luminol by H_2O_2 . Cr^{6+} is reduced to Cr^{3+} by H_2SO_3 , thus the total chromium ion can be determined. Optimum conditions are obtained: applied voltage is -500V; luminol concentration is $2.50 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$; hydrogen peroxide concentration is $4.00 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$; pH of luminol is 12, pH of $\text{Cr}(\text{III})$ solution is 5. The linear range is $1.00 \times 10^{-6} \text{ mg/mL} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mg/mL}$ and detection limit is $6.60 \times 10^{-7} \text{ mg/mL}$ ($S/N=3$), The relative standard deviation(RSD) is 0.6% for 11 measurements of $6.00 \times 10^{-6} \text{ mg/mL}$ Cr^{3+} standard solution. The method has been successfully applied to the determination of chromium of the medicine samples Astragalus.

Key words Flow injection Chemiluminescence Astragalus Chromium