

# 罗丹明 B 与铁(Ⅲ)的荧光猝灭反应及其应用

柴红梅, 孙雪花, 宋改芸, 张 瑞, 祝 磊

(延安大学化学与化工学院, 陕西省化学反应工程重点实验室, 陕西延安 716000)

**摘 要:**在 pH 10.0 的  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液中, 微量 Fe(Ⅲ) 对罗丹明 B 的荧光强度具有明显的猝灭作用。实验研究了该猝灭反应并讨论了将其应用于铁(Ⅲ)分析的最佳条件。实验表明, 于 25 mL 比色管中, 分别依次加入 3.00 mL 罗丹明 B 溶液、一定量的 Fe(Ⅲ) 标准溶液、2.00 mL pH 10.0 的  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液, 用水稀释至刻度, 摇匀, 用 1 cm 四面透光的石英比色皿进行测定, 体系的最大发射波长  $\lambda_{\text{em}}=580$  nm, 最大激发波长  $\lambda_{\text{ex}}=550$  nm。Fe(Ⅲ) 的质量浓度在 0.004~0.028  $\mu\text{g/mL}$  范围内与其对应的荧光猝灭值  $\Delta F$  呈良好的线性关系, 相关系数为 0.987 9, 方法的检出限为 0.003 8  $\mu\text{g/mL}$ 。将实验体系应用于不同环境水样(矿泉水、山泉水、自来水)中 Fe(Ⅲ) 的测定, 测得结果与原子吸收光谱法(国家水质标准方法 GB 11911—1989)基本一致, 相对标准偏差(RSD,  $n=6$ )为 3.5%~7.5%, 回收率在 99%~106%之间。

**关键词:**罗丹明 B; 铁(Ⅲ); 荧光猝灭法

文献标志码: A 文章编号: 1000-7571(2017)03-0074-04

目前 Fe(Ⅲ) 的测定方法有分光光度法<sup>[1-2]</sup>、催化动力学光度法<sup>[3]</sup>、荧光法<sup>[4-5]</sup>、原子吸收光谱法(AAS)<sup>[6]</sup>等。荧光法具有较高的选择性、线性范围宽、重现性好、取样量少、方法简便等优点已经被广泛应用<sup>[7-9]</sup>。研究发现, 在 pH 10.0 的  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  的缓冲溶液中, 微量 Fe(Ⅲ) 对罗丹明 B 的荧光强度具有明显的猝灭作用, 据此, 实验建立了荧光猝灭法测定 Fe(Ⅲ) 的新方法。将实验方法应用于水(矿泉水、山泉水、自来水)中 Fe(Ⅲ) 的测定, 结果满意。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器和试剂

F97Pro 荧光光度计(上海棱光技术有限公司)。

Fe(Ⅲ)标准溶液: 5 mg/mL, 准确称取 43.17 g 铁铵矾 [ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ ], 滴加 10 mL  $\text{HNO}_3$  (1+1), 并加水稀释, 于 1 000 mL 容量瓶中定容, 用时逐级稀释为 0.1  $\mu\text{g/mL}$  Fe(Ⅲ)标准工作溶液;  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液(pH 10.0): 取 27 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  于烧杯中, 加入适量水溶解后转移至 500 mL 容量瓶中, 然后加入 197 mL 15 mol/L 的氨水,

最后定容至刻度即可; 罗丹明 B(RB)溶液: 0.02 mg/mL。

实验所用的其他试剂均为分析纯; 实验用水均为超纯水。

### 1.2 实验方法

取两支规格均为 25 mL 并带有玻璃塞的比色管, 分别依次加入 3.00 mL RB 溶液、一定量的 Fe(Ⅲ)标准溶液(第 1 支不加 Fe(Ⅲ), 荧光强度为  $F_0$ ; 第 2 支加 Fe(Ⅲ), 荧光强度为  $F$ )、2.00 mL  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲溶液, 用水稀释至刻度, 摇匀, 用 1 cm 四面透光的石英比色皿, 在发射波长为 580 nm, 激发波长为 550 nm 处, 分别测定其荧光强度  $F$  和  $F_0$ , 并计算  $\Delta F = F_0 - F$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 荧光光谱

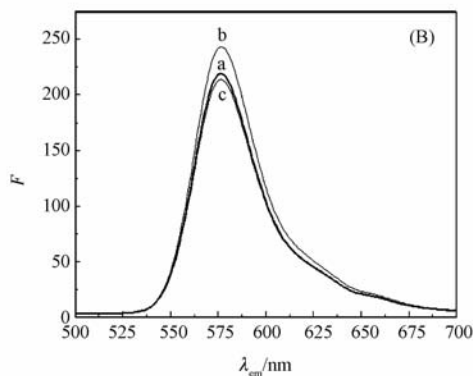
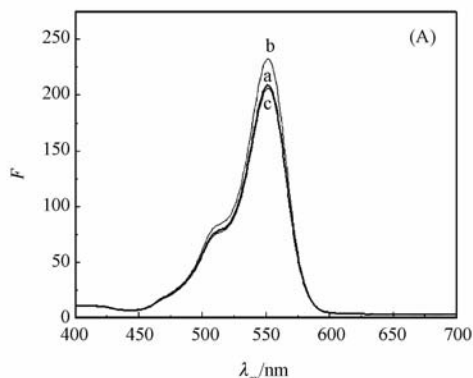
室温下, 按照实验方法, 分别扫描了 RB、RB+ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ 、 $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}+\text{Fe(Ⅲ)}$ + $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  这 3 种体系的激发和发射荧光光谱, 结果如图 1 所示。由图 1 可见, 上述 3 种体系的最大发射和最大激发

收稿日期: 2016-08-29

基金项目: 陕西省教育厅重点实验室项目(16JS121); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201510719268); 延安大学引导项目(YD2015-08)

作者简介: 柴红梅(1976—), 女, 硕士, 副教授, 主要从事环境样品的分析; E-mail: chm8550@163.com

波长均分别位于 580 nm 和 550 nm 处,且发射峰位和峰形不变,仅加入 Fe(Ⅲ)后 RB 的荧光强度发生猝灭,这说明 Fe(Ⅲ)对 RB 的荧光猝灭为静态过程<sup>[10]</sup>。进一步试验发现,RB 的荧光猝灭程度与 Fe(Ⅲ)的质量浓度呈良好的线性关系。据此,建立了测定微量 Fe(Ⅲ)的荧光猝灭新体系。实验选择  $\lambda_{ex} = 550$  nm,  $\lambda_{em} = 580$  nm。



a. RB; b. RB+NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl;

c. RB+NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl+0.032 μg/mL Fe(Ⅲ)。

图 1 反应体系的激发(A)和发射(B)光谱图

Fig. 1 Excitation(A) and emission(B) spectra of the reaction system

## 2.2 反应条件的确定

### 2.2.1 缓冲溶液及其用量

按照实验方法,试验了 0.50 mL 0.01 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、1.00 mL 0.01 mol/L HCl、1.50 mL 0.01 mol/L H<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>、2.00 mL 0.01 mol/L HNO<sub>3</sub>、2.50 mL HAc-NaAc 缓冲溶液(pH 2.6~5.8)、3.00 mL NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl 缓冲溶液(pH 7.5~11.0)对体系  $\Delta F$  的影响,结果发现采用 3.00 mL pH 10.0 的 NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl 缓冲溶液时  $\Delta F$  明显最大。进一步在 1.00~5.00 mL 范围内对 pH 10.0 的 NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl 缓冲溶液用量进行了试验,结果表明,其用量为 2.00 mL 时  $\Delta F$  最大。因此实验选用 2.00 mL pH 10.0 的

NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl 缓冲溶液。

### 2.2.2 RB 溶液的用量

按照实验方法,固定其他条件不变,在 RB 溶液用量为 1.00~6.00 mL 范围内进行试验。结果发现:随着 RB 溶液用量的增加,体系  $\Delta F$  先增加后减小;当 RB 溶液用量为 3.00 mL 时,体系  $\Delta F$  最大且稳定。所以实验选用 3.00 mL RB 溶液。

### 2.2.3 试剂加入顺序

考察了试剂加入顺序对荧光猝灭的影响。对 RB 溶液、NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl 缓冲溶液和 Fe(Ⅲ)标准溶液 3 种试剂的加入顺序进行排列组合,共得到 6 种加入顺序,分别按照这 6 种加入顺序进行了试验。结果表明,当加入顺序为 RB 溶液、Fe(Ⅲ)标准溶液和 NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl 缓冲溶液时,体系  $\Delta F$  最大且稳定,故实验中采用此种加入顺序进行测定。

### 2.2.4 反应时间

在室温下考察了 Fe(Ⅲ)对罗丹明 B 荧光猝灭的稳定性,结果表明,在发生反应 5 min 到 1 h 之内,体系  $\Delta F$  基本保持不变。所以实验选择反应 5 min 后对体系进行测定。

## 2.3 校准曲线与检出限

按照实验方法,仅改变 Fe(Ⅲ)的用量对体系的荧光强度进行测定,并分别计算  $\Delta F$ 。结果表明:Fe(Ⅲ)的质量浓度在 0.004~0.028 μg/mL 范围内与其对应的  $\Delta F$  呈良好的线性关系,线性回归方程为  $\Delta F = 1103.6 \rho_{Fe(Ⅲ)} (\mu g/mL) - 1.0000$ ,相关系数为 0.9879。

对 0.008 μg/mL 的 Fe(Ⅲ)进行 11 次平行测定,其测定结果的相对标准偏差(RSD)为 1.4%。连续进行 11 次空白试验,测得空白的标准偏差  $S = 1.38$ 。按照公式  $D = 3S/K$  ( $K$  为校准曲线的斜率)计算得到方法检出限为 0.0038 μg/mL。

## 2.4 共存离子的影响

为了考查共存离子对测定结果的影响,在 Fe(Ⅲ)质量浓度为 0.008 μg/mL 时,分别加入一定量的干扰离子进行干扰试验。结果表明,控制相对误差不大于 ±5%,共存离子的允许倍数分别如下: F<sup>-</sup> (1000), Sb(Ⅲ)、Al<sup>3+</sup>、Br<sup>-</sup>、Ca<sup>2+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、Cd<sup>2+</sup> (500), Mg<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup> (200), Ag<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup> (100), Ni<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>、Ti(Ⅳ) (50), Cu<sup>2+</sup>、Sn<sup>2+</sup> (10)。

## 3 样品分析

采集不同的水样(瓶装矿泉水、山泉水、自来水),用定量滤纸过滤,滤去水中的不溶物,移入试剂

瓶中备用。

在 4 支(编号依次为 0、1、2、3)规格相同的并带有玻璃塞的 25 mL 比色管中,分别依次加入 3.00 mL RB 溶液、 $x$  mL 上述处理好的水样(0 号  $x=0$ ;1 号为矿泉水,  $x=5.00$ ;2 号为山泉水,  $x=1.00$ ;3 号

为自来水,  $x=1.00$ )、2.00 mL pH=10.0 的  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  缓冲液,用水定容至刻度,摇匀,其他按照实验方法进行测定,并进行加标回收试验,同时采用 AAS(国家水质标准方法 GB/T 11911—1989)进行方法比对试验,结果见表 1。

表 1 水样中 Fe(III)的测定结果

Table 1 Determination results of Fe(III) in water samples

样品 Sample	测定值 Found/ ( $\mu\text{g/L}$ )	平均值 Average/ ( $\mu\text{g/L}$ )	相对标准 偏差 RSD ( $n=6$ )/%	加标量 Added/ ( $\mu\text{g/L}$ )	测得总量 Total found/ ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 Recovery/%	AAS 测定值 Found by AAS/ ( $\mu\text{g/L}$ )
瓶装矿泉水	14.3, 13.4, 12.4 14.1, 14.5, 15.5	14.0	7.5	8.00	21.9	99	13.4
山泉水	12.4, 13.1, 12.4 14.0, 13.0, 13.0	13.0	4.5	8.00	21.0	100	14.0
自来水	17.0, 18.0, 17.2 17.0, 16.4, 16.4	17.0	3.5	8.00	25.5	106	17.8

## 参考文献:

[1] 李国强, 杨建君, 何家洪, 等. 分光光度法测定铁(III)的研究进展[J]. 冶金分析, 2014, 34(1): 34-44.  
LI Guo-qiang, YANG Jian-jun, HE Jia-hong, et al. Review of the research on the determination of trace iron(III) with spectrophotometry [J]. Metallurgical Analysis, 2014, 34(1): 34-44.

[2] 李波, 焦舰, 王光鑫, 等. 流动注射光度法测定痕量铁[J]. 化学研究与应用, 2003, 15(5): 728-730.  
LI Bo, JIAO Jian, WANG Guang-xin, et al. Flow injection spectrophotometric determination of trace iron(III) [J]. Chemical Research and Application, 2003, 15(5): 728-730.

[3] 柴红梅, 高楼军, 藏小妹, 等. 流动注射催化光度法测定环境水样中的痕量铁[J]. 冶金分析, 2013, 33(3): 46-49.  
CHAI Hong-mei, GAO Lou-jun, ZANG Xiao-mei, et al. Determination of traces iron in environmental water samples by flow injection catalytic spectrophotometry [J]. Metallurgical Analysis, 2013, 33(3): 46-49.

[4] 樊玮鑫, 高雪敏, 李生泉. 金橙 G 二级散射增敏法测定痕量铁(III)[J]. 分析试验室, 2013, 32(5): 107-110.  
FAN Wei-xin, GAO Xue-min, LI Sheng-quan. Determination of trace iron(III) based on second order scattering spectra of orange G [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2013, 32(5): 107-110.

[5] Zeng Z T, Jewsbury R A. Fluorimetric determination of iron using 5-(4-methoxyphenylazo)-8-(4-toluenesulfonamido)quinoline [J]. Analyst, 2000, 125: 1661-1665.

[6] 刘月成, 王尚芝, 李海, 等. 火焰原子吸收光谱法测定云冈石窟风化岩石中钙铜铁锰[J]. 冶金分析, 2010, 30

(2): 38-41.  
LIU Yue-cheng, WANG Shang-zhi, LI Hai, et al. Determination of calcium, copper, iron and manganese in weathering rock of Yungang Grottoes by flame atomic absorption spectrometry [J]. Metallurgical Analysis, 2010, 30(2): 38-41.

[7] Zhang Yu-qi, Li Xiang-dong, Gao Lou-jun, et al. Silole-infiltrated photonic crystal films as effective fluorescence sensor for  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Hg}^{2+}$  [J]. Chemphyschem, 2014, 15: 507-513.

[8] 孙雪花, 高志均, 管雨荷, 等. 铁(III)-甲磺酸代替沙星荧光体系的研究与应用[J]. 冶金分析, 2009, 29(7): 33-35.  
SUN Xue-hua, GAO Zhi-jun, GUAN Yu-he, et al. Study on the fluorescence system of iron-gatifloxacin mesilate and its application [J]. Metallurgical Analysis, 2009, 29(7): 33-35.

[9] 马红燕, 孙雪花, 田锐, 等. 基于酪氨酸荧光猝灭的荧光光度法测定水样和奶粉中痕量铁[J]. 理化检验: 化学分册, 2009, 45(5): 575-577.  
MA Hong-yan, SUN Xue-hua, TIAN Rui, et al. Fluorimetric determination of traces of iron in milk powder and water sample by quenching of fluorescence of tyrosine [J]. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis, 2009, 45(5): 575-577.

[10] 高贵珍, 焦庆才, 丁一磊, 等. 茜素红 S 荧光猝灭法测定壳聚糖含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(5): 895-898.  
GAO Gui-zhen, JIAO Qing-cai, DING Yi-lei, et al. Fluorescence quenching method for the determination of chitosan with alizarin red S [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2003, 23(5): 895-898.

## Fluorescence quenching reaction of rhodamine B with iron(III) and its application

CHAI Hong-mei, SUN Xue-hua, SONG Gai-yun, ZHANG Rui, ZHU Lei

(Shaanxi Key Laboratory of Chemical Reaction Engineering, Department of Chemistry & Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China)

**Abstract:** Micro Fe(III) showed obvious quenching effect on the fluorescence intensity of rhodamine B in  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  buffer solution at pH 10.0. This quenching reaction was investigated and the optimal conditions for its application in Fe(III) analysis were discussed. In 25 mL colorimetric tube, 3.00 mL of rhodamine B solution, certain volume of Fe(III) standard solution and 2.00 mL of  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  buffer solution at pH 10.0 were added. The solution was diluted to the mark with water. After shaking up, it was determined in 1 cm quartz cuvette which was pervious to light all around. The maximum emission wavelength and maximum excitation wavelength of system was  $\lambda_{em}=580$  nm and  $\lambda_{ex}=550$  nm, respectively. The fluorescence quenching value ( $\Delta F$ ) showed linear relationship to the mass concentration of Fe(III) in range of 0.004-0.028  $\mu\text{g/mL}$  with correlation coefficient of 0.987 9. The detection limit of method was 0.003 8  $\mu\text{g/mL}$ . The proposed method was applied for the determination of Fe(III) in various environmental water samples (mineral water, spring water and tap water). The results were consistent with those obtained by atomic absorption spectrometry (GB 11911-1989 of national standard analysis method for water quality). The relative standard deviations (RSD,  $n=6$ ) were between 3.5% and 7.5%. The recoveries were between 99% and 106%.

**Key words:** rhodamine B; iron(III); fluorescence quenching method