

# Fe(Ⅲ)—KI—RB 体系荧光猝灭法间接测定微量铁

## Indirect determination of trace iron (Ⅲ) based on fluorescence quenching of Fe (Ⅲ)—KI—RB system

董文丽 徐刚

DONG Wen-li XU Gang

(重庆科技学院,重庆 401331)

(ChongQing University of Science and Technology, Chongqing, 400050, China)

**摘要:**研究  $\text{Fe}^{3+}$  与过量 KI 反应生成  $\text{I}_3^-$  对罗丹明 B 荧光信号的猝灭作用。在盐酸介质中,  $\text{Fe}^{3+}$  与过量 KI 反应生成  $\text{I}_3^-$ ,  $\text{I}_3^-$  与罗丹明 B 形成离子缔合物, 猝灭罗丹明 B 分子的内源性荧光, 使其荧光强度显著降低。据此, 建立 Fe(Ⅲ)—KI—RB 体系间接测定铁的荧光分析方法。体系的最大激发波长和最大发射波长分别为 352 nm 和 580 nm, 铁(Ⅲ)含量在 0.02~4.50  $\mu\text{g}/25\text{ mL}$  范围内与罗丹明 B 荧光猝灭值  $\Delta F$  呈良好的线性关系, 方法的检出限为 0.006  $\mu\text{g}/25\text{ mL}$ , 用该法测定花生中微量铁, 相对标准偏差小于 2%, 加标回收率在 96.7%~101.0%, 结果满意。

**关键词:**铁; 罗丹明 B; 荧光猝灭

**Abstract:** This research is focused on the fluorescence properties and reaction conditions of Fe (Ⅲ)—KI—RB system.  $\text{I}_3^-$  is generated with  $\text{Fe}^{3+}$  reaction with excessive KI in hydrochloric acid solution, which can react with rhodamine B to form Ion complexes to lead to quenching of inherent fluorescence of rhodamine B. The results shows that excitation wavelength( $\lambda_{\text{ex}}$ ) is 352 nm and emission wavelength( $\lambda_{\text{em}}$ ) is 580 nm. The fluorescence intensity decreased linearly with the iron (Ⅲ) concentration in the range of 0.02~4.50  $\mu\text{g}/25\text{ mL}$ . The detection limit is 0.006  $\mu\text{g}/25\text{ mL}$ . It is applied to the determination of trace iron(Ⅲ) in peanuts with satisfactory results, which the relative standard deviation is less than 2%, and the average recovery rate of iron is between 96.7%~101% when adding standard solution to the samples.

**Keywords:** iron(Ⅲ); rhodamine B; fluorescence quenching

铁是人体必需的微量元素之一, 可以参与血蛋白, 细胞色素及各种酶的合成<sup>[1,2]</sup>。生物医学研究证明<sup>[3]</sup>, 微量元素的浓度与人体健康之间具有越来越多的相关性, 因此研究测定食品中微量铁具有重要意义。微量铁的测定方法主要有

原子吸收光谱法<sup>[4,5]</sup>、分光光度法<sup>[6]</sup>、伏安法<sup>[7]</sup>、高效液相色谱法<sup>[8]</sup>、荧光分析法<sup>[9,10]</sup>等。中国 GB/T 5009.90—2003《食品中铁、镁、锰的测定》采用火焰原子吸收法, 但由于该法灵敏度不高, 对于一些铁含量较低的样品分析受到限制。而荧光分析法以其灵敏度高、选择性好及操作简便等优点, 广泛应用于环境水样<sup>[11]</sup>、食品<sup>[12]</sup>及药品<sup>[13]</sup>中微量铁的测定。罗丹明 B(rhodamine B, RB)属于“三苯甲烷类”试剂, 本身具有很强的荧光性及络合能力, 可以跟许多物质反应形成离子缔合物, 导致 RB 分子本身的内源性荧光发生猝灭, 从而实现某些阴阳离子的检测分析。迄今尚未有关于 RB 荧光猝灭法测定微量铁的研究报道, 本研究拟根据在盐酸介质中,  $\text{Fe}^{3+}$  与过量 KI 反应后生成  $\text{I}_3^-$ ,  $\text{I}_3^-$  与 RB 形成离子缔合物, 使 RB 分子内源性荧光发生猝灭, 荧光猝灭值的大小与体系中  $\text{Fe}^{3+}$  浓度在一定范围内成正比, 从而建立起 Fe(Ⅲ)—KI—RB 体系荧光猝灭法间接测定微量铁的新方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要仪器及试剂

荧光光谱仪: LS55 型, 美国 PE 公司;

高通量密闭微波消解系统: CEM MARS 型, 美国培安科技公司;

原子吸收分光光度计: AA-702 型, 北京东西分析仪器有限公司(仪器使用条件: 灯电流 5 mA, 光谱通带 0.2 nm, 波长 248.5 nm, 燃烧器高度 6 mm);

电子天平: BP211D 型, 德国赛多利斯公司;

浓盐酸、30%过氧化氢: 优级纯, 成都金山化学试剂有限公司;

聚乙烯醇 PVA-124、乳化剂 OP-10、罗丹明 B: 分析纯, 重庆川东化学试剂厂;

微乳液: OP-10 : 正戊醇 : 正庚烷 : 水 = 3.2 : 2.3 : 0.5 : 94(V/V);

**作者简介:**董文丽(1972—), 女, 重庆科技学院高级实验师, 硕士。

E-mail:1104304126@qq.com

**通讯作者:**徐刚

**收稿日期:**2014-12-07

RB溶液(储备液):  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L,使用时稀释至  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L;

铁标准溶液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):准确称取 0.014 3 g  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (99.99%)于 100 mL 烧杯中,加入 5 mL HCl(6 mol/L)溶解后转移至 100 mL 容量中,用一级去离子水稀释至刻度,摇匀,此溶液为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的铁(III)标准溶液,使用时稀释成 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的铁工作液;

花生:2013年8月采集于贵州务川;

试验用水为一级去离子水,所用试剂除特别说明外,均为分析纯。

## 1.2 试验方法

1.2.1 激发波长和发射波长的选择 于 25 mL 比色管中分别加入 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  铁标准工作溶液 0.00, 4.00 mL, 10% 的碘化钾溶液 1.00 mL, 1 mol/L 的 HCl 2.00 mL, 混匀后稀释至 10 mL, 静置 10 min 后,再加入  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L RB 溶液 2.00 mL, 10 g/L 的 PVA-124 溶液 0.50 mL, 微乳液 0.50 mL, 摇匀,然后用去离子水稀释至 25 mL, 放置 10 min, 用荧光光谱仪分别扫描空白及离子缔合物的激发波长和发射波长,确定体系的荧光最大激发波长和最大发射波长。

1.2.2 盐酸用量的选择 吸取 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  铁标准工作溶液 0.00, 4.00 mL 于 25 mL 比色管中,其它试剂固定不变,只改变盐酸的用量(加入 1 mol/L 的 HCl 溶液 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00 mL),分别测定空白荧光强度  $F_0$  及离子缔合物溶液的荧光强度  $F$ ,按式(1)计算荧光猝灭值  $\Delta F$ ,以  $\Delta F$  对盐酸用量绘制曲线,确定盐酸的最佳用量。

$$\Delta F = F_0 - F \quad (1)$$

1.2.3 碘化钾用量的选择 其它试剂不变,分别加入 10% 的碘化钾溶液 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 mL,测定空白荧光强度  $F_0$  及离子缔合物溶液的荧光强度  $F$ ,按式(1)计算荧光猝灭值  $\Delta F$ ,以  $\Delta F$  对碘化钾用量绘制曲线,确定碘化钾的最佳用量。

1.2.4 罗丹明 B 用量的选择 其它试剂不变,分别加入  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L 的罗丹明 B 溶液 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00 mL,测定空白荧光强度  $F_0$  及离子缔合物溶液的荧光强度  $F$ ,按式(1)计算荧光猝灭值  $\Delta F$ ,以  $\Delta F$  对罗丹明 B 用量绘制曲线,确定罗丹明 B 的最佳用量。

1.2.5 表面活性剂的选择 其它试剂不变,分别加入不同种类、不同量的表面活性剂,测定空白和离子缔合物的荧光强度,确定表面活性剂的种类及最佳用量。

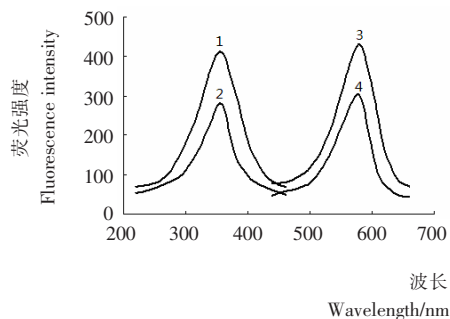
1.2.6 标准曲线的绘制 于 25 mL 比色管中分别加入 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  铁标准工作溶液 0.00, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50, 4.00, 4.50 mL, 10% 的碘化钾溶液 1.00 mL, 1 mol/L 的 HCl 2.00 mL, 混匀后稀释至 10 mL, 静置 10 min 后,再加入  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L RB 溶液 2.00 mL, 10 g/L 的 PVA-124 溶液 0.50 mL, 微乳液 0.50 mL, 摇匀,然后用去离子水稀释至 25 mL, 放置 10 min, 用 1 cm 比色

皿,以水作参比,于波长  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 352 \text{ nm}/580 \text{ nm}$  处测量试剂空白荧光强度  $F_0$  及离子缔合物溶液的荧光强度  $F$ ,按式(1)计算荧光猝灭值  $\Delta F$ ,以  $\Delta F$  对铁(III)质量绘制标准曲线。

## 2 结果与讨论

### 2.1 激发光谱和发射光谱

由图 1 可知,在表面活性剂 PVA-124 和微乳液存在下,体系的最大激发波长为 352 nm,最大发射波长为 580 nm。KI—RB 体系的激发和发射光谱(曲线 1 和 3)荧光值明显比  $\text{Fe(III)}$ —KI—RB 体系(曲线 2 和 4)的荧光值高,说明 KI 本身不与 RB 反应形成离子缔合物,但当体系中有  $\text{Fe}^{3+}$  存在时, $\text{Fe}^{3+}$  可与 KI 反应生成  $\text{I}_2$ ,  $\text{I}_2$  再与过量的 KI 反应生成  $\text{I}_3^-$ ,  $\text{I}_3^-$  与 RB 形成离子缔合物,使 RB 分子内源性荧光发生猝灭,导致 RB 分子的荧光强度降低的结果。



1. KI—RB 体系的激发光谱 2.  $\text{Fe(III)}$ —KI—RB 体系的激发光谱  
3. KI—RB 体系的荧光发射光谱 4.  $\text{Fe(III)}$ —KI—RB 体系的荧光发射光谱

图 1 荧光激发和发射光谱

Figure 1 Excitation and emission spectra of fluorescence

### 2.2 酸度的影响

试验考察了不同浓度的 HCl 溶液对体系荧光猝灭值的影响见图 2,结果表明,当加入 1 mol/L HCl 为 2.00 mL 时荧光猝灭值最大且稳定。因此,本试验选择 1 mol/L HCl 溶液为 2.00 mL。

### 2.3 碘化钾用量试验

试验考察了 0.1 mol/L KI 溶液加入量对体系荧光猝灭

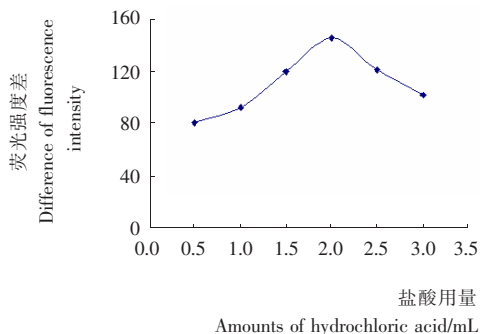


图 2 盐酸用量曲线

Figure 2 Curve of hydrochloric acid used amount

情况的影响见图 3。体系的荧光猝灭情况先随 KI 的加入量逐渐增加,当加入 KI 的量为 1.00 mL 时最大,但超过 1.00 mL 时又逐渐减小,这是因为  $\text{Fe}^{3+}$  与过量 KI 反应后生成  $\text{I}_3^-$ ,  $\text{I}_3^-$  与 RB 形成离子缔合物,使 RB 分子内源性荧光发生猝灭,但碘化钾浓度太大时,单位体积内有效  $\text{I}_3^-$  相对较少,使 RB 分子内源性荧光猝灭效应相对减弱。因此,本试验选用 KI 加入量为 1.00 mL。

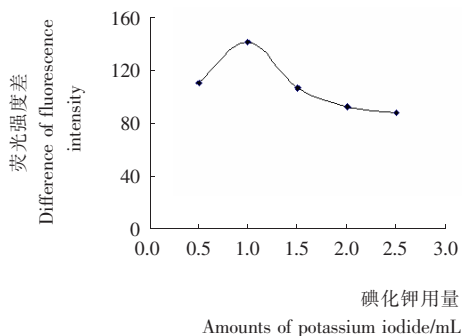


图 3 碘化钾用量曲线

Figure 3 Curve of potassium iodide used amount

#### 2.4 罗丹明 B 用量的影响

试验考察了不同量 RB 对体系荧光猝灭的影响见图 4。试验表明,荧光猝灭值随 RB 溶液的增加而增大,当 RB 溶液增加到 2.00 mL 时,荧光猝灭值最大且灵敏度最高;当 RB 的用量超过 2.00 mL 后体系的荧光猝灭值逐渐减小,检测的灵敏度降低,这可能是由于过量 RB 对于激发光的吸收具有隐蔽效应所致。因此,本试验选择 RB 最佳用量为 2.00 mL。

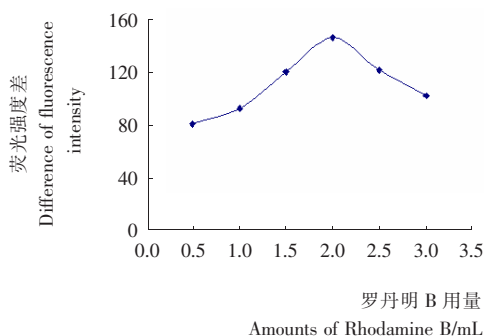


图 4 罗丹明 B 用量曲线

Figure 4 Curve of Rhodamine B used amount

#### 2.5 表面活性剂的影响

试验考察了阴离子表面活性剂十二烷基苯磺酸钠(SD-BS)、阳离子表面活性剂十六烷基三甲基溴化铵(CTMBA)、阿拉伯树胶、明胶、司班-40、司班-60、PVA-124、微乳液( $V_{\text{OP-10}} : V_{\text{正戊醇}} : V_{\text{正庚烷}} : V_{\text{水}} = 3.2 : 2.3 : 0.5 : 94$ )对体系荧光猝灭值的影响,试验表明,当同时加入 0.5 mL PVA-124 (10 g/L)和 0.5 mL 微乳液时,体系荧光猝灭值最大且稳定。

#### 2.6 干扰离子

当测定 0.08  $\mu\text{g}/\text{mL}$  铁,相对误差  $< 5\%$  时,允许干扰离

子的倍数为:1 000 倍的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ ;500 倍的  $\text{NH}_4^+$ ;400 倍的  $\text{F}^-$ ;300 倍的  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ ;50 倍的  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ ;2 倍的  $\text{Cr(VI)}$ ;0.5 倍的  $\text{Cu}^{2+}$ ;  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  不干扰测定。

#### 2.7 线性范围及检测下限

按(1.2.6)试验方法分别测定不同量的铁加入后的荧光强度  $F$  和空白的荧光强度  $F_0$ ,以  $\Delta F$  为纵坐标,以铁的质量为横坐标绘制标准曲线,曲线的回归方程为  $\Delta F = 21.968C + 4.1769$ ,铁含量在 0.02~4.50  $\mu\text{g}/25 \text{ mL}$  范围内与  $\Delta F$  呈良好的线性关系(见图 5),相关系数为  $\gamma = 0.9992$ ,以空白的 3 倍标准偏差除以工作曲线的斜率得本方法的检测下限为 0.006  $\mu\text{g}/25 \text{ mL}$ 。

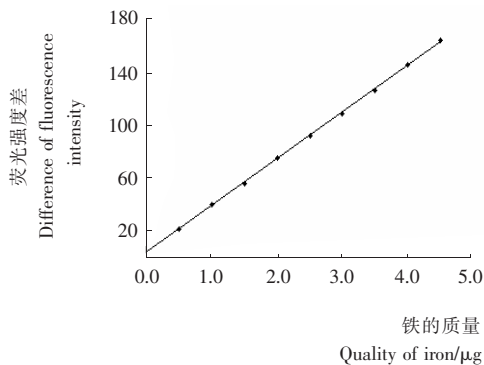


图 5 标准曲线

Figure 5 Standard curve

### 3 样品分析及回收率测定

将花生置于 105  $^{\circ}\text{C}$  干燥箱中烘至恒重后研磨成粉末,准确称取 1.000 0 g 粉末样品于微波消解罐中,加入浓硝酸 10 mL,30% 过氧化氢 2.0 mL,按照程序升温进行消解(微波程序升温为:0~60  $^{\circ}\text{C}$ ,升温 2 min,停留 1 min;60~120  $^{\circ}\text{C}$ ,升温 6 min,停留 3 min;120~180  $^{\circ}\text{C}$ ,升温 6 min,停留 10 min,微波功率为 800 W,效率为 100%),消解完毕后取出罐体,冷却至室温,将消解液转移至小烧杯中低温加热蒸至近干,取下加水溶解盐类,然后转移至 50 mL 容量瓶中,稀释至刻度摇匀备用。

移取 5.00 mL 样品试液于 25 mL 比色管中,其余所加试剂按试验方法进行。用 1 cm 比色皿,以水作参比,于波长  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 352 \text{ nm}/580 \text{ nm}$  处测量样品溶液的荧光值  $F$ ,计算荧光猝灭值  $\Delta F$ ,同时做加标回收试验,试验结果见表 1。

表 1 样品测定结果

Table 1 Determination results of samples ( $n=5$ )

样品	本法测定值/ $\mu\text{g}$	RSD/%	加标量/ $\mu\text{g}$	测得总量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	原子吸收法/ $\mu\text{g}$
花生 1#	2.12	1.2	0.5	2.61	98.0	2.14
花生 2#	2.15	1.0	1.0	3.16	101.0	2.17
花生 3#	2.08	1.0	1.5	3.53	96.7	2.10

(下转第 133 页)

- 2 庞民好,刘颖超,张利辉,等. 衍生色谱法测定奶粉中的微量碘[J]. 河北农业大学学报,2006,29(4):98~100.
- 3 鄂颖,池涛,胡本涛,等. 气相色谱法测定乳及乳制品中碘的影响因素[J]. 中国乳品工业,2012,40(11):45~46.
- 4 奉夏平,叶祥平,姚春燕,等. 灰化法气相色谱/质谱法测定奶粉中碘的研究[J]. 分析科学学报,2009,25(2):241~243.
- 5 朱惠芳,江勇,李明. 气相色谱衍生—萃取法测定婴幼儿奶粉中的碘[J]. 质量探索,2006(11):26.
- 6 邱会东,马进,徐刚. 光度法测定食品中碘含量的研究进展[J]. 重庆科技学院学报(自然科学版),2007,9(4):21~23.
- 7 李世敏,刘东. 放大反应比色法测定食品中碘的研究[J]. 食品科学,2002,23(8):214~217.
- 8 朱文明,陈玉满. 酸消化法测定乳汁中微量碘[J]. 浙江预防医学,1998(1):63~64.
- 9 柴成文,刘克纳,牟世芬. 安培检测—离子色谱法测定乳品中的微量碘[J]. 色谱,2001,19(1):94~96.
- 10 焦霞,鲁联合,盖学武. 离子色谱紫外检测器联用技术同时分离测定乳制品中的碘离子和硫酸根[J]. 化学分析计量,2010,19(1):33~35.
- 11 李静,王雨,梁立娜. 混合模式色谱柱离子色谱法同时测定奶粉中的碘离子和硫酸根[J]. 色谱,2010,28(4):422~425.
- 12 邱会东,冯承劲,李刚,等. 食品中碘的测定研究进展[J]. 食品与机械,2005,21(6):60~65.
- 13 刘丽萍,吕超,谭玲,等. 电感耦合等离子体质谱法测定乳制品中碘含量的方法研究[J]. 质谱学报,2010,31(3):138~142.
- 14 郑聪,王金花,高峰,等. 电感耦合等离子体—质谱法测定食用藻类植物中碘含量[J]. 食品科学,2011,32(8):202~205.
- 15 Pacquette L H,Levenson A M,Thompson J J. Determination of total iodine in infant formula and nutritional products by inductively coupled plasma/mass spectrometry:single-laboratory validation[J]. Journal of AOAC Int,2012,95(1):169~176.
- 16 Pacquette L H,Levenson A M,Thompson J J,et al. Total iodine in infant formula and nutritional products by inductively coupled plasma/mass spectrometry:First Action 2012. 14[J]. Journal of AOAC Int,2013,96(4):798~801.
- 17 Sullivan D,Zywicki R. Determination of total iodine in foods and dietary supplements using inductively coupled plasma-mass spectrometry[J]. Journal of AOAC Int,2012,95(1):195~202.
- 18 Márcia F Mesk,Paola A Mello,Cezar A Bizzi,et al. Iodine determination in food by inductively coupled plasma mass spectrometry after digestion by microwave-induced combustion[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry,2010,398(2):1 125~1 131.
- 19 Benkhedda K,Robichaud A,Turcotte S,et al. Determination of total iodine in food samples using inductively coupled plasma-mass spectrometry[J]. Journal of AOAC Int,2009,92(6):1 720~1 727.
- 20 Gélinas Y,Krushevskaja A,Barnes R M. Determination of total iodine in nutritional and biological samples by ICP—MS following their combustion within an oxygen stream[J]. Analytical Chemistry,1998,70(5):1 021~1 025.

(上接第124页)

## 4 结论

本试验对 Fe(Ⅲ)—KI—RB 络合物荧光猝灭体系进行了研究,优化了体系的测量条件,并将该方法用于花生中微量铁的测定,结果与原子吸收法<sup>[14]</sup>基本一致;方法具有较高的灵敏度,检测下限低,可用于水样、食品及中药材中微量铁的测定;由于体系所用的 RB 试剂具有较强的荧光特性,因此,要求测量者必须具有熟练的加液操作技能,否则会給样品测定带来误差。

### 参考文献

- 1 吕金荣. 微量元素铁与人体健康[J]. 微量元素与健康研究,2006,23(3):63~64.
- 2 孙长峰,郭娜. 微量元素铁对人体健康的影响[J]. 微量元素与健康研究,2011,28(2):64~66.
- 3 孙德生,胡蓉. 微量元素与人体健康[J]. 江西化工,2003(4):46~51.
- 4 朱明扬,余莲芳,任欢,等. 8种干制水产品中7种金属元素含量的检测分析[J]. 食品与机械,2012,28(6):99~102.
- 5 Anzano J M, Gonzalez P. Determination of iron and copper in peanuts by flame atomic absorption spectrometry using acid digestion[J]. Microchem. J., 2000, 64(2): 141~145.
- 6 秦瑜丽. 分光光度法测定铁质叶酸片中铁元素的含量[J]. 食品与机械,2013,29(1):99~101.
- 7 李云,王晨雪,高游,等. 循环伏安法测定溶液中 Fe<sup>3+</sup> 和 Fe<sup>2+</sup> 浓度比[J]. 冶金分析,2011,31(3):72~75.
- 8 余萍,丁连明,孙娜. 反相高效液相色谱法测定镍(Ⅱ)和铁(Ⅲ)[J]. 冶金分析,2010,30(1):65~68.
- 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.
- 10 Wei Tai-bao, Liu Jun, Yao Hong, et al. Selective chemosensor of Fe<sup>3+</sup> based on fluorescence quenching by 2, 2'-bisbenzimidazole derivative in aqueous media[J]. Chin. J. Chem., 2013, 31: 515~519.
- 11 Hossam E M Sayour, Taha M A Razeq, Karima F Fadel. Flow injection spectrofluorimetric determination of iron in industrial effluents based on fluorescence quenching of 1-naphthol-2-sulfonate[J]. J. Fluoresc, 2011, 21:1 385~1 391.
- 12 樊玮鑫,李生泉,郝桂青,等. 硫基同步荧光猝灭法测定痕量铁(Ⅲ)[J]. 光谱实验室,2012,29(4):2 109~2 112.
- 13 李瑜,张振新. 铁猝灭荧光分析法测定环丙沙星的研究与应用[J]. 应用化工,2014,43(5):933~935.
- 14 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 90—2003 食品中铁、镁、锰的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.