

双波长共振瑞利散射法快速测定皮蛋中的 Cd

江虹*, 张琴, 吴征真, 秦艾

(长江师范学院 化学化工学院, 武陵山片区绿色发展协同创新中心, 重庆, 408100)

摘要 建立了快速测定皮蛋中 Cd 的双波长共振瑞利散射法。在 pH 5.72 的 Tris-盐酸缓冲介质中, Cd(II) 与固绿 FCF-溴代十六烷基吡啶结合生成三元络合物, 导致体系的双波长共振瑞利散射(DWO-RRS)光谱显著增强, 最大和次大共振瑞利散射峰分别位于 367 nm 和 469 nm 波长处, 在此二波长处, Cd(II) 的质量浓度在 0.004 ~ 0.22 mg/L 内与体系的双波长共振瑞利散射(RRS)增强程度 ΔI_{RRS} 呈线性关系, 检出限 ($3\sigma/S$) 为 1.3 ng/mL, 定量限为 0.012 mg/kg。文中还研究了反应条件和共存物质的影响, 反应机理及 RRS 增强的原因。结果表明, 方法有较高的灵敏度和良好的选择性, 据此, 提出了简便、快速、灵敏、准确测定痕量 Cd(II) 的双波长光散射新方法, 用于皮蛋中 Cd 的测定, 回收率为 97.8% ~ 102%, 相对标准偏差(RSD) ($n=5$) 为 2.1% ~ 2.6%。

关键词 Cd; 溴代十六烷基吡啶; 固绿 FCF; 皮蛋; 双波长; 共振瑞利散射

Cd 是一种对人体有害的蓄积性毒物, 环境中的镉, 经食物链富集后对人体的呼吸系统、消化系统及肺、肾等器官造成严重损害, 并可引发骨痛病、贫血, 甚至诱发癌症。皮蛋具有特殊风味, 可促进食欲。而传统工艺制作的皮蛋, 因生产过程中会加入黄丹粉以生成美丽的松花, 由此, 重金属不可避免会进入皮蛋中, 从而影响产品的品质。现代工艺制作的皮蛋, 若使用非食品级的 CuSO_4 , 依旧存在重金属污染问题。若人们长期食用皮蛋, 则重金属将会在体内富集, 对人体造成危害。鉴于此, 对皮蛋中的痕量 Cd 进行研究具有重要意义。

目前, 测定 Cd 的方法主要有: 原子吸收法^[1-8], X 射线荧光光谱法^[9-10], 电感耦合等离子体质谱法^[11-12], 电化学法^[13-14], 分光光度法^[15-16]等。原子吸收法有高的灵敏度和选择性, 但所用仪器价格较贵, 不易普及。X 射线荧光光谱法操作简单, 测试速度快, 但条件要求较苛刻。电感耦合等离子体质谱法检出限低, 精密度高, 稳定性好, 但仪器较贵, 运行及维护成本高。电化学法可同时检测多种重金属离子, 但检测成本较高。分光光度法操作简便、快速, 分析成本低, 但灵敏度不高。共振瑞利散射法是近年新发展起来的一种高灵敏分析技术, 已广泛用于生化、环

境、药物等分析领域, 而在食品领域用得较少。本文以酸性三苯甲烷染料固绿 FCF 为探针, 以溴代十六烷基吡啶(TPB)为增敏剂, 利用 Cd(II) 对固绿 FCF-TPB- Cd(II) 体系共振瑞利散射光的线性增强作用, 建立了测定痕量 Cd(II) 的双波长共振瑞利散射新方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

固绿 FCF(分析纯, 上海迈瑞尔化学技术有限公司), $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (99.99%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司), 溴代十六烷基吡啶(分析纯, 上海倍卓生物科技有限公司), 三羟甲基氨基甲烷(分析纯, 上海源叶生物科技有限公司), HCl 、 HNO_3 (分析纯, 重庆川东化工(集团)有限公司化学试剂厂), 实验用水为超纯水。皮蛋(1# ~ 3#), 购于重庆不同农贸市场。

1.2 仪器与设备

F-2500 型荧光分光光度计, 日本日立公司; pH-3C 精密酸度计, 上海虹益仪器仪表有限公司。SX-4-10 高温炉, 苏州江东精密仪器有限公司。

1.3 溶液的配制

固绿 FCF(fast green FCF, 简称为 FAG)溶液: 1.0×10^{-4} mol/L。Cd(II) 标准溶液: 称取适量 Cd($\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 于小烧杯中, 用水溶解后配成 11.24 mg/L 贮备液, 取此液稀释 10 倍, 即得操作液。溴代十六烷基吡啶(简称为 TPB): 称取适量 TPB, 用少量

第一作者: 学士, 教授(本文通讯作者, E-mail: jianghongch@163.com)。

基金项目: 重庆市教委科技基金资助项目(KJ1401226); 长江师范学院科技基金资助项目(2015CXX079)

收稿日期: 2016-11-30, 改回日期: 2016-12-27

无水乙醇溶解后加水配成 400 mg/L。三羟甲基氨基甲烷(Tris)-盐酸缓冲溶液:0.20 mol/L Tris 溶液与 0.10 mol/L 盐酸混合,用酸度计测定,配成 pH 3.0 ~ 9.5 的系列缓冲溶液。 HNO_3 溶液:取 25.0 mL 浓 HNO_3 ,加 25.0 mL 水,配成体积比为 1:1 的溶液。

1.4 样品处理

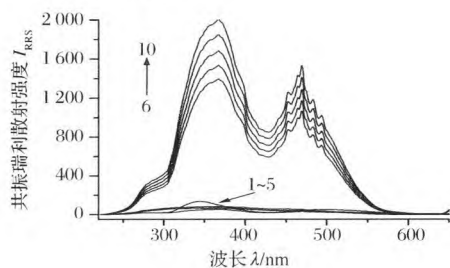
取 1#~3# 皮蛋各 3 个,去壳后将其切碎,研匀,准确称取 1# 皮蛋 28.832 5 g,2# 皮蛋 29.566 3 g,3# 皮蛋 28.976 2 g,分别置于瓷坩埚中,在可控电炉上低温加热至样品完全炭化,再将温度调至 500 ~ 550 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧灰化约 6 h,取出冷却后,加 3.0 mL 1:1 HNO_3 润湿灰分,低温加热蒸干,再在 500 ~ 550 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧 2 h,放冷,取出坩埚,加入 2.0 mL 1:1 HNO_3 溶液和 5 mL 水,搅拌,低温加热至灰分完全溶解,冷却后过滤,用水定容至 25 mL,即得待测液。

1.5 实验方法

准确移取适量的 1.12 mg/L $\text{Cd}(\text{II})$ 标准溶液或样液于 10 mL 比色管中,再依次加入 1.0 mL pH 5.72 Tris-盐酸缓冲溶液,3.0 mL 1.0×10^{-4} mol/L FAG 溶液及 0.10 mL 400 mg/L TPB 溶液,用水定容,摇匀,15 min 后,在荧光光度计上(设 $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = 220$ nm,测定狭缝 5.0 nm)进行同步扫描,记录 RRS 光谱,并在 367 nm 和 469 nm 处分别测定体系和试剂空白的 RRS 强度 $I_{\text{RRS}}(367 \text{ nm})$ 、 $I_{\text{RRS}}(469 \text{ nm})$ 及 $I_0(367 \text{ nm})$ 、 $I_0(469 \text{ nm})$,计算 $\Delta I_{\text{RRS}} = I_{\text{RRS}} - I_0$, $\Delta I_{\text{RRS}}(367 + 469) = I_{\text{RRS}}(367 + 469) - I_0(367 + 469)$ 。

2 结果与讨论

2.1 RRS 光谱特征



1. $\text{Cd}(\text{II})$ (0.112 mg/L); 2. FAG (3.0×10^{-5} mol/L); 3. TPB (4.0 mg/L); 4. FAG (3.0×10^{-5} mol/L), pH 5.72; 5. TPB (4.0 mg/L), pH 5.72; 6 ~ 10. $\text{Cd}(\text{II})$ (0.000, 0.0562, 0.112, 0.169, 0.225 mg/L) - FAG (3.0×10^{-5} mol/L) - TPB (4.0 mg/L), pH 5.72

图 1 RRS 光谱

Fig. 1 RRS spectra

从图 1 可知,单独的 $\text{Cd}(\text{II})$ 、FAG、TPB 溶液的 RRS 均十分微弱(曲线 1~3),FAG 及 TPB 的酸性溶液的 RRS 也十分微弱(曲线 4~5)。当在 FAG 的酸性溶液中加入阳离子表面活性剂 TPB 后,其 RRS 显著增强(曲线 6),说明 TPB 可以增敏 FAG,最大和次大共振瑞利散射峰分别位于 367 nm 和 469 nm。在此二波长处,随着 $\text{Cd}(\text{II})$ 质量浓度的增加,体系的 RRS 强度随之增大(曲线 7~10), $\text{Cd}(\text{II})$ 在一定浓度范围内,其质量浓度与体系的 RRS 增强强度(ΔI_{RRS})呈线性关系。根据散射强度的加和性,当用双波长叠加法测定时,体系的 RRS 增强强度 ΔI_{RRS} 与一定浓度范围的 $\text{Cd}(\text{II})$ 的质量浓度仍呈线性关系,而灵敏度却比用单波长法测定约高 1 倍,故可采用双波长-共振瑞利散射(DWO-RRS)法定量测定 $\text{Cd}(\text{II})$ 的含量。

可能的反应机理:TPB 是一种阳离子表面活性剂,在溶液中可离解出 Br^- ,变成带 1 个单位正电荷的阳离子活性基团,而 FAG 是一种三苯甲烷类的酸性染料,在溶液中可离解出 2 个 Na^+ ,使自身带 2 个单位的负电荷。带正电荷的 TPB 活性基团可与带负电荷的酸性染料 FAG 以静电引力结合生成带负电荷的缔合颗粒,进而与 $\text{Cd}(\text{II})$ 结合生成三元络合物,使体系摩尔质量和体积均显著增大,故 RRS 光谱显著增强。

2.2 反应条件的选择

2.2.1 pH 值

室温下,考察了 367 nm 处 pH 5.0 的 NaAc-HAc、Tris-盐酸及 Britton-Robison(简称为 BR)等缓冲溶液对三元体系 ΔI_{RRS} 的影响。结果表明,使用 Tris-盐酸时,体系的 ΔI_{RRS} 相对较大,故选择 Tris-盐酸作反应介质。继而考察了不同 pH 值的 Tris-盐酸缓冲溶液对三元体系 ΔI_{RRS} 的影响(图 2)。

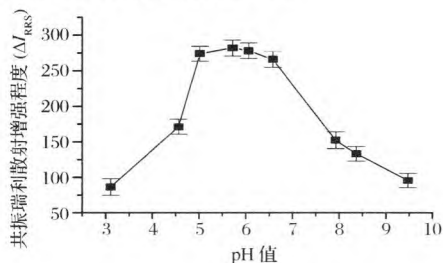


图 2 pH 值对 ΔI_{RRS} 的影响

Fig. 2 Effect of buffer pH on ΔI_{RRS}

结果表明,溶液的 pH 在 5.0 ~ 6.8 内,体系

ΔI_{RRS} 较大,灵敏度较高。当用 DWO-RRS 法测定时,由于散射强度的叠加使其灵敏度更高。故实验用 pH 5.72 的 Tris-盐酸缓冲溶液。继而固定 Cd(II) 及固绿 FCF 的浓度及用量不变,改变 pH 5.72 的 Tris-盐酸缓冲溶液的用量,按 1.5 节的实验方法扫描 RRS 光谱,从光谱曲线得知,当缓冲溶液用量为 1.0 mL 时,体系的 ΔI_{RRS} 最大,灵敏度最高,故实验选用 pH 5.72 的缓冲溶液 1.0 mL。

2.2.2 FAG 溶液的浓度

室温下,考察了 367 nm 处不同浓度的 FAG 溶液对三元体系 ΔI_{RRS} 的影响(图 3)。结果表明,FAG 溶液浓度在 $(2.7 \sim 3.8) \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 内,体系的 ΔI_{RRS} 较大,灵敏度较高。此范围外,当 FAG 的浓度小于 $2.7 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 时,Cd(II) 与 FAG-TPB 未充分结合,致使 ΔI_{RRS} 降低;当 FAG 的浓度大于 $3.8 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 时,由于 FAG 分子自身的聚集作用致使体系的 ΔI_{RRS} 降低。当用 DWO-RRS 法测定时,由于散射强度的叠加使其灵敏度更高。故实验选用 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ FAG 溶液 3.0 mL。

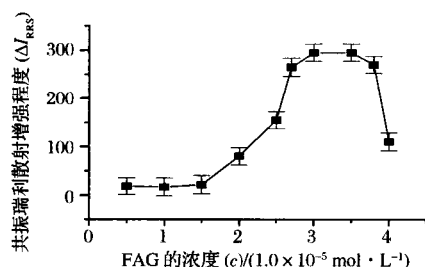


图3 FAG溶液浓度对 ΔI_{RRS} 的影响

Fig. 3 Effect of fast green FCF concentration on ΔI_{RRS}

2.2.3 表面活性剂

室温下,考察了 367 nm 处阳离子表面活性剂溴化十六烷基三甲基铵和溴代十六烷基吡啶,阴离子表面活性剂十二烷基磺酸钠和十二烷基硫酸钠,非离子表面活性剂 Triton X-100、Tween-20 等对三元体系 ΔI_{RRS} 的影响。结果表明,只有阳离子表面活性剂对该体系有增敏作用,其中又以 TPB 为最佳。继而在固定其他条件不变的情况下,试验了不同浓度的 TPB 溶液对体系 ΔI_{RRS} 的影响,结果表明,适宜的 TPB 溶液浓度为 4.0 mg/L,此时体系的 ΔI_{RRS} 最大,灵敏度最高。实验表明,TPB 与 FAG 在酸性溶液中能以静电引力结合形成离子缔合物,当用 DWO-RRS 法测定时,由于散射强度的叠加使其灵敏度更高。故实验用 400 mg/L TPB 溶液 0.10 mL 作增敏剂。

2.2.4 试剂加入顺序

室温下,考察了 367 nm 处,各试剂在不同加入顺序时对三元体系 ΔI_{RRS} 的影响。结果表明,按 1.5 节的加入顺序为最佳,此时体系 ΔI_{RRS} 最大,灵敏度最高。而用双波长法测定时,因散射强度的叠加使其灵敏度更高。故实验按此顺序进行。

2.2.5 反应时间及稳定性

室温下,考察了不同放置时间对三元反应 ΔI_{RRS} 的影响(图 4)。结果表明,反应在 15 min 内可进行完全,15 min 后,体系的 ΔI_{RRS} 基本处于一个平台上,稳定时间约 2 h。实验选在 15 min 后测定。

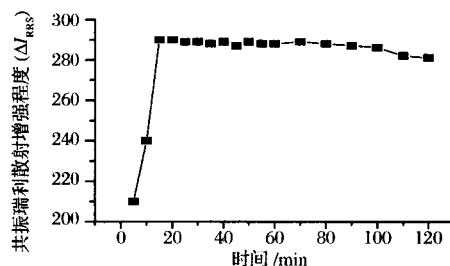


图4 时间对 ΔI_{RRS} 的影响

Fig. 4 Effect of time on ΔI_{RRS}

2.3 标准曲线

在最佳条件下配制 Cd(II) 的标准系列溶液,即按 1.5 节的方法,固定其它条件不变,加入 1.124 mg/L Cd(II) 标准溶液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0 mL,按实验方法配制溶液并同步扫描 RRS 光谱,用 DWO-RRS 法测定不同浓度的 Cd(II) 与 FAG-TPB 形成的三元络合物的 $\Delta I_{\text{RRS}(367+469)}$,并作 $\Delta I_{\text{RRS}(367+469)}-\rho$ 标准曲线(图 5)。该方法的一元线性回归方程为 $\Delta I_{\text{RRS}(367+469)} = -7.8316 + 4830 \rho$,相关系数为 $r = 0.9998$,检出限为 1.3 ng/mL,定量限为 0.012 mg/kg,在确定了检出限、定量限后,根据标准曲线可以确定出线性范围为 0.004 ~ 0.22 mg/L。

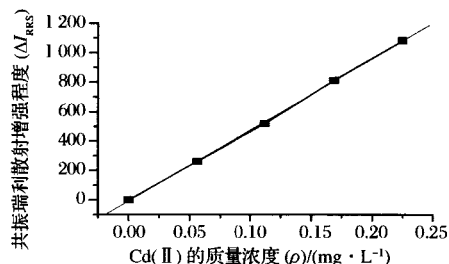


图5 Cd(II)的 DWO-RRS 法标准曲线

Fig. 5 DWO-RRS standard curve of cadmium (II)

2.4 共存物质的影响

室温下,考察了某些常见物质对测定 0.112 mg/L Cd(II) 的影响。结果表明,当相对误差不大于 $\pm 5\%$ 时,以下物质不干扰测定:100 倍的 K^+ 、 Na^+ 、 Sr^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ba^{2+} 、 NH_4^+ 、 $S_2O_3^{2-}$ 、 SO_4^{2-} 、 SO_3^{2-} 、 NO_3^- 、 $C_2O_4^{2-}$ 、 I^- 、 Cl^- ;20 倍的 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 。可见,方法有很好的选择性。

2.5 样品分析

取 1.4 节各待测液 3.0 mL 按实验方法分析,各平行测定 5 份。同时做加标回收试验($n=5$):用固

定质量称量法分别准确称取 3 份 1# 皮蛋 28.832 5 g,3 份 2# 皮蛋 29.566 3 g,3 份 3# 皮蛋 28.976 2 g,称量的允许误差均为 $\pm 0.000 1$ g,根据表 1 中的加标量分别加入 Cd(II) 标准溶液,然后按 1.4 节的方法制成各待测液,最后按 1.5 节的方法扫描各溶液的 RRS 光谱。根据 DWO-RRS 法标准曲线或回归方程,求出各待测液中 Cd(II) 的含量,从而求得原始样品中 Cd 的含量,并与国标法(石墨炉原子吸收法, AAS)比较。同时求出各回收率及相对标准偏差。结果见表 1。

表 1 样品分析结果及回收试验($n=5$)

Table 1 Analytical results of samples and recovery tests ($n=5$)

样 品	测得值/(mg·kg ⁻¹)		本底值/ (10 ⁻⁵ mg)	加标量/ (10 ⁻⁵ mg)	测得平均值/ (10 ⁻⁵ mg)	回收率/ %	RSD/%
	DWO-RRS	AAS					
1 #	0.0126	0.0131	4.36	3.36	7.68	98.8	2.5
				6.72	11	98.8	2.4
				11.2	15.3	97.8	2.6
				4.48	12.8	102	2.4
2 #	0.0232	0.0220	8.23	8.96	17.4	101	2.3
				12.3	20.8	102	2.1
				3.36	11.1	98.5	2.2
				7.84	15.5	98.3	2.3
3 #	0.0224	0.0230	7.79	16.9	24.5	98.9	2.3

3 结论

本法操作简便,试剂价廉易得,样品处理安全,不需分离富集,有较高的灵敏度和良好的选择性,准确度和精密度能满足痕量分析要求,测定结果与国标法接近,皮蛋含量符合国家限量要求。方法适于批量皮蛋中 Cd 的快速测定。

参 考 文 献

- [1] 刘全德,刘恩岐,陈尚龙,等.微波消解-石墨炉原子吸收光谱法测定蛋白质粉中镉[J].食品与发酵工业,2011,37(10):168-173.
- [2] TU Yu-jiao, JU Shuang-qiao, WANG Ping-yan. Flame atomic absorption spectrometric determination of copper, lead, and cadmium in gastrodia rhizoma samples after preconcentration using magnetic solid-phase extraction[J]. Spectroscopy Letters, 2016, 49(4): 249-256.
- [3] MARI A, TORAJ A J, NAZIR F. Application of microwave-assisted dispersive liquid-liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry for ultra-trace determination of lead and cadmium in cereals and agricultural products[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2016, 96(3): 271-283.
- [4] WANG Lu, HANG Xue-yu, CHEN Yue, et al. Determination of cadmium by magnetic multiwalled carbon nanotube flow injection preconcentration and graphite furnace atomic absorption spectrometry[J]. Analytical Letters, 2016, 49(6): 818-830.
- [5] JU Shuang-qiao, LIU Mou-sheng, YANG Ya-ling. Preconcentration and determination of cadmium, lead, and cobalt in moringa oleifera (moringaceae) using magnetic solid-phase extraction and flame atomic absorption spectrometry[J]. Analytical Letters, 2016, 49(4): 511-522.
- [6] SEZEN S, MUSTAFA I, SALIH Z Y, et al. Novel functionalized silica gel for on-line preconcentration of cadmium (II), copper (II), and cobalt (II) with determination by flame atomic absorption spectrometry[J]. Analytical Letters, 2016, 49(7): 943-957.
- [7] 王延梅,袁海宽.改性介孔二氧化硅分离富集-火焰原子吸收光谱法检测痕量镉[J].分析实验室, 2015, 34(12): 1419-1422.
- [8] 申东方,周方钦,王珍.磁芯-疏脉壳聚糖微柱在线流动注射-原子吸收光谱法测定大米中痕量镉[J].分析科学

- 学报,2015,31(1):28-32.
- [9] 李颖,冯秀梅,陆筱彬,等. X-射线荧光光谱法测定锌铝铜合金中的铝、铜、铁、硅、镍、铅和镉[J]. 中国无机分析化学,2015,5(4):69-73.
- [10] 骆倩,张谷平,赵美凤,等. X-射线荧光光谱法测定稻谷中镉、铅和无机砷[J]. 粮油食品科技,2016,24(4):64-70.
- [11] 周谔非,杨彦丽. 微波消解 ICP-MS 同时测定色母粒中多种重金属元素[J]. 食品与发酵工业,2012,38(1):169-171.
- [12] 刘庄蔚. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定谷维素中 8 种痕量元素的含量[J]. 中国药师,2016,19(1):179-181.
- [13] ABBAS A, MORTEZA S S, HAMED G, et al. Construction of modified carbon paste electrode for highly sensitive simultaneous electrochemical determination of trace amounts of copper(II) and cadmium(II)[J]. Electroanalysis,2016,28(2):296-303.
- [14] KISAN K, JOSE H S, AI L T, et al. Chemically modified carbon paste electrode for the detection of lead, cadmium and zinc ions[J]. Sensor Review, 2016, 36(4):339-346.
- [15] 赵丹,敖特根巴雅尔,钟志梅,等. 四苯基卟啉(TPP)分光光度法测定二价锌、镉离子的含量[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版),2015,36(5):160-164.
- [16] 李咏梅,王新宇,陈蕾,等. 镉(II)-邻菲罗啉-曙红 Y 缔合体系光度法测定痕量镉[J]. 冶金分析,2011,31(9):78-80.

Fast determination of cadmium in preserved eggs by dual-wavelength resonance Rayleigh scattering method

JIANG Hong*, ZHANG Qin, WU Zheng-zhen, QIN Ai

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Collaborative Innovation Center for Green Development in Wuling Mountain Areas, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

ABSTRACT A new and fast dual-wavelength overlapping resonance Rayleigh scattering (DWO-RRS) method was developed to detect cadmium in preserved eggs. In a Tris-hydrochloric acid buffer medium at pH 5.72, cadmium (II) can be bound with fast green FCF-hexadecylpyridinium bromide to form a ternary complex. As a result, the new spectra of DWO-RRS appeared and its intensities was enhanced greatly. The largest and the second largest resonance Rayleigh scattering peak were located at 367 nm and 469 nm respectively. Under these two wavelengths, resonance Rayleigh scattering (RRS) intensity (ΔI_{RRS}) was directly proportional to the cadmium (II) mass concentration in a range of 0.004-0.22 mg/L. The methods had high sensitivity with the detection limit ($3\sigma/S$) of 1.3 ng/mL and quantitation limit of 0.012 mg/kg. The optimal conditions and the effects of coexistent substances of RRS method were investigated. In addition, the reasons for RRS enhancement and reaction mechanism of ternary complex were discussed. Results indicated that this assay had a high sensitivity and good selectivity. This simple, rapid, highly sensitive, accurate and new dual-wavelength scattering method had been proposed to determine trace cadmium (II). The method was applied to determine the content of cadmium in a series of preserved eggs, the values of recovery and relative standard deviation (RSD) ($n=5$) were found in the ranges of 97.8%-102% and 2.1%-2.6% respectively.

Key words cadmium; hexadecylpyridinium bromide; fast green FCF; preserved eggs; dual-wavelength; resonance Rayleigh scattering