

罗丹明 6G 比色法同时测定污染蔬菜中的铅和镉

龚小勇¹, 黎其万², 王继良¹, 和丽忠²

(1. 昆明医学院药学院, 云南昆明 650031)

(2. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 云南昆明 650223)

摘要: 硝酸(1+11)浸提干燥蔬菜样品, 利用罗丹明 6G 直接水相比色同时测量样品中的 Pb、Cd。实验确定了 Pb 在 0.1~1.0 μg/mL、Cd 在 0.01~0.1 μg/mL 浓度范围内符合线性相关关系, 显色体系最佳 pH=5.0。硝酸浸提法检测了六种蔬菜样品, 与湿消解法相比 Pb、Cd 平均提取率分别为 97.47%、96.82%; 平均 RSD<5; 平均加标回收率为 102.6%、101.2%, 结果令人满意。

关键词: 罗丹明 6G; 比色法; 铅; 镉; 蔬菜

文章编号: 1673-9078(2012)3-354-356

Rapid Determination of Lead and Cadmium in Pollute Vegetable by Rhodamine 6G Colorimetry

GONG Xiao-yong¹, LI Qi-wan², WANG Ji-liang¹, HE Li-zhong²

(1. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kunming Medical College, Kunming 650031, China) (2. Quality Standard and Testing Technology Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: Dry vegetable was extracted by nitric acid (1+11) and the content of lead and cadmium in sample could be simultaneously got by rhodamine 6G aqueous phase colorimetric test. The results confirmed that lead and cadmium had good linear relation in concentration range of 0.1~1.0 μg/mL and 0.01~0.1 μg/mL, respectively. The best pH value for the colorimetric system is 5.0. Compared with wet extraction, the average extraction efficiency of nitric acid for lead and cadmium were 97.47% and 96.82%, and average RSD was less than 5. Average recoveries of standard addition in six samples were 102.6% and 101.2%.

Key words: rhodamine 6G; colorimetry; lead and cadmium; vegetable

近年来, 食品安全问题日益严重, 各地广泛发生的人体中血铅、血镉含量超标事件引起人们高度的关注。研究报道, 人体中铅、镉含量超标能对呼吸、泌尿、肾脏、心血管等系统产生不可逆转的毒副作用^[1]。人体的血铅、血镉主要来源于食物, 其中又主要以食用污染的蔬菜作为铅、镉的主要摄取途径, 所以有必要建立一种可以快速检测蔬菜中重金属含量的方法。关于铅、镉的检测, 比较成熟的方法有原子吸收分光光度法、比色法^[2-4]。前者有较好的灵敏度、选择性, 是目前为止铅、镉检测的标准方法, 但该方法仪器费用过高、需专门的实验条件, 不适合蔬菜种植现场和田间检测。双硫脲比色法虽然费用不高, 但比色操作复杂、需用剧毒的氰化钾试剂以及氯仿等有毒试剂, 给检测工作带来极大不便。并且这两种检测方法的样品

收稿日期: 2011-11-24

基金项目: 云南省科技创新强省计划项目(2009AB002)

作者简介: 龚小勇(1986-), 男, 硕士研究生, 主要从事分析化学等方面的研究

通讯作者: 和丽忠(1963-), 男, 研究员, 主要从事农产品质量安全工作

都需强酸消化、高温赶酸, 所耗时间一般在 24 h 左右, 不符合快速检测的要求。文献有用罗丹明 6G, 分别测量铅、镉的报道^[5,6], 但直接水相比色同时测量污染蔬菜的铅、镉却未见报道。我们建立了一种硝酸浸提蔬菜样品, 罗丹明 6G 直接水相比色测量的方法, 该法具有简单、快速、可靠的优点。

1 材料与方法

1.1 材料

772S 可见光分光光度计: 上海菁华科技仪器有限公司; ELAN DRc-e 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS): 美国 Perkin Elmer 公司。

Pb、Cd 标准溶液: 1000 μg/mL (逐级稀释到所需浓度); 0.01% (g/mL) 罗丹明 6G 溶液 (简称 R); pH 缓冲液: 称取 14.02 g 六亚甲基四胺, 调节 pH 为 5 并定溶到 100 mL; 10% (g/mL) 碘化钾溶液; 0.4 mol/L 柠檬酸钠: 称取 11.746 g 柠檬酸钠, 调节 pH 为 5 并定溶到 100 mL; 1% (g/mL) 明胶溶液; 氢氧化钠溶液: 称取 17.72 g, 定溶到 100 mL; 0.5% (V/V) 硝酸

溶液；活性炭。所用试剂均为分析纯，除非特别说明，所有试验用水为去离子水。

1.2 方法

称取 5 g (准确到 0.002 g) 蔬菜样品，烘干、研磨，转入 50 mL 的容量瓶中，加入 20 mL 硝酸 (1+11) 密封提取 1 h (稍加摇晃)，过滤、2 mL 水冲洗，加入 5 mL 氢氧化钠溶液，加入 0.4 g 的活性炭，煮沸 6 min，过滤，3 mL 水冲洗，再加 0.15 g 活性炭，煮沸 6 min，过滤，1 mL 水冲洗，最后加入 1 mL 0.5% 硝酸溶液。

依次加入 1 mL pH 缓冲液、5 mL 罗丹明 6G 溶液、3 mL 明胶溶液、1 mL 柠檬酸钠溶液 (测量镉时添加)，定溶到 25 mL，5 min 后于 575 nm 处比色。

2 结果与分析

2.1 线性范围

吸取一定量的铅、镉混合标准溶液，依次加入 1 mL pH 缓冲液、5 mL 罗丹明 6G 溶液、3 mL 明胶溶液，5 分钟后于 575 nm 处比色，得到吸光度 A_1 ；加入 1 mL 柠檬酸钠溶液，得到吸光度 A ，绘制 $\Delta A (A_1 - A) - \text{Pb}^{2+}$ 、 $A - \text{Cd}^{2+}$ 标准曲线，如图 1、图 2。

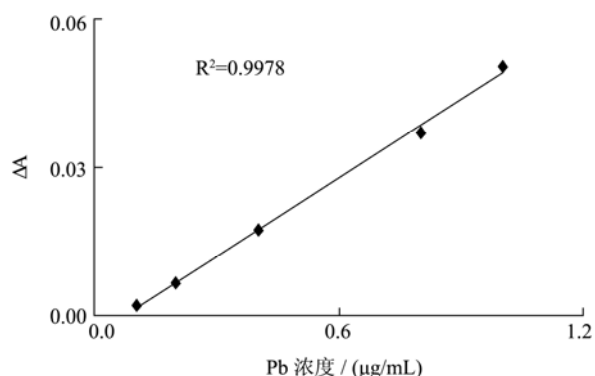


图 1 Pb 标准曲线

Fig.1 Calibration curve of Lead

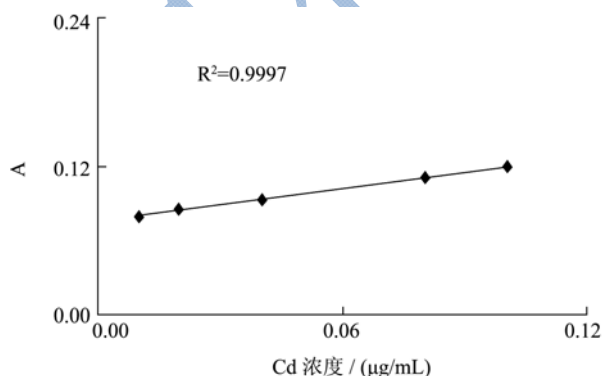


图 2 Cd 标准曲线

Fig.2 Calibration curve of Cadmium

从图 1、图 2 看出，Pb 浓度在 0.1~1.0 μg/mL 范围内，线性相关系数达到 0.9978；Cd 浓度在 0.01~0.1 μg/mL 范围内，线性相关系数达到 0.9997，都大于 99%

置信度所要求的相关系数 $r=0.990$ ，说明该比色法测量稳定、可靠。

2.2 各个阶段最佳 pH 的确定

2.2.1 显色体系 pH

实验发现，在 pH 值小于 2 时， Γ^1 会被氧化而形成 Γ^3 ， Γ^3 与罗丹明 6G 也能结合，从而使空白值增加。从 pH=2.0 开始，每次增加 0.5 个 pH 值，结果表明：在 pH=4.0~5.5 时，显色体系能最少稳定 5 min，选择 pH=5.0。

2.2.2 样品前处理 pH

用 (1+11) 硝酸提取之后的溶液 pH 为 0.2，在酸性条件下除去提取液中的颜色后在用氢氧化钠调节 pH=5 时，又会有颜色出现，所以我们先用氢氧化钠调节 pH=9.0 (根据离子浓度和离子溶度积常数综合考虑，不会影响 Pb、Cd 离子)，再利用活性炭除色，最后用硝酸调节 pH=5.0，比色效果好。

2.3 显色时间和掩蔽剂

显色原理：Pb (Cd) 和碘离子瞬间形成二元配合物 $=[\text{Pb}(\text{Cd})\text{I}_4]^{2-}$ ，都各自与罗丹明 6G 形成三元配合物 $=[\text{Pb}(\text{Cd})\text{I}_4]^{2-}\text{R}_2$ ，罗丹明 6G 的吸收波长为 530 nm 的橘红色，而形成三元离子配合物之后，发生红移现象，吸收波长为 575 nm 的粉红色，为可见光比色形成了条件^[7]。由显色原理可知，该反应是即刻发生的，实验确定稳定时间最少为 5 min，所以选择 5 min 之后比色。

掩蔽剂：Pb 与柠檬酸钠的稳定常数为 6.5 大于 Pb 与碘化物的稳定常数 4.47，而 Cd 与柠檬酸钠的稳定常数为 3.98 小于 Cd 与碘化物的稳定常数 5.41 ± 0.1 ^[8]。实验也发现柠檬酸钠对 Pb 有很好的掩蔽作用，且安全无毒，是理想的掩蔽剂。

2.4 稳定剂的选取

三元配合物 $=[\text{Pb}(\text{Cd})\text{I}_4]^{2-}\text{R}_2$ 不溶于水，为了使该配合物均匀的分散在整个体系中，需要加入增溶剂。实验比较了明胶、阿拉伯胶、聚乙烯醇三种增溶剂，发现明胶有比较明显的稳定作用，且加入量 ≥ 3 mL。

2.5 pH 缓冲液

由于显色体系 pH=5，根据各个缓冲液的缓冲范围，选择六亚甲基四胺作为显色体系的缓冲液。

3 模拟样品分析

选取六种有代表性的干燥蔬菜样品，精确称取 0.3500 g，分别用硝酸 (1+11)、湿法提取，由于 Pb、Cd 含量低于最低检出限，选用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 测量，结果如表 1、表 2。

表 1 Pb 精密度、提取率测定

Table 1 Determination results of lead precision and extraction

名称	硝酸浸提 ($\mu\text{g/mL}$),n=4	RSD/%	湿法消解提 取($\mu\text{g/mL}$)	提取率/%	S/%
芹菜	0.060	6.776	0.064	94.97	6.434
空心菜	0.091	2.745	0.096	95.20	2.613
小白菜	0.056	1.460	0.057	99.22	1.448
黄瓜	0.060	2.323	0.061	98.94	2.304
卷心菜	0.100	1.352	0.101	99.05	1.446
土豆	0.053	2.012	0.054	97.43	1.961

表 2 Cd 精密度、提取率测定

Table 2 Determination results of Cadmium precision and extraction

名称	硝酸浸提 ($\mu\text{g/mL}$),n=4	RSD/%	湿法消解提取 ($\mu\text{g/mL}$)	提取率/%	S%
芹菜	0.009	1.926	0.010	90.00	1.887
空心菜	0.005	4.902	0.005	100.0	4.696
小白菜	0.010	1.352	0.011	90.90	1.333
黄瓜	0.003	3.087	0.003	100.0	2.950
卷心菜	0.005	2.897	0.005	100.0	2.760
土豆	0.004	3.933	0.004	100.0	3.739

从表 1~2 看出,两种提取方法的相关系数 P 分别为 0.993、0.998,均大于 $\alpha=0.01$ 的相关系数极值 ($n-2=4$) $P=0.917$,说明两种提取方法没有显著性差异。

以上六种蔬菜加标回收实验,按照实验方法,其结果如表 3~4。

表 3 Pb 回收率测定

Table 3 Determination results of lead recovery

名称	Pb ($\mu\text{g/mL}$)	Pb 加入量/ $(\mu\text{g/mL})$		测量值/ $(\mu\text{g/mL})$		回收率/%	
		低浓度	高浓度	低浓度	高浓度	低浓度	高浓度
芹菜	0.060	0.1	0.4	0.165	0.455	105.0	98.75
空心菜	0.091	0.1	0.4	0.205	0.511	114.0	105.0
小白菜	0.056	0.1	0.4	0.160	0.436	104.0	95.00
黄瓜	0.060	0.1	0.4	0.160	0.455	100.0	98.75
卷心菜	0.100	0.1	0.4	0.210	0.474	110.0	93.50
土豆	0.053	0.1	0.4	0.160	0.455	107.0	100.5

从表 3、表 4 看出, Pb 的低、高浓度平均回收率分别为 106.7%、98.58%; Cd 的低、高浓度平均回收率为 104.3%、98.00%,符合微量组分对回收率的要求。

4 结论

利用硝酸 (1+11) 提取, 罗丹明 6G 直接水相比色同时测量污染蔬菜中的 Pb、Cd, 实验发现, 该方法切实可行。相比传统的双硫脲比色法, 在检测限相差不大的情况下, 该法具有不用湿法消解、不使用有毒掩蔽剂、能直接水相比色、操作步骤简单等优点。由于所用仪器便于携带, 能对污染蔬菜、农田进行现场检测, 快速、稳定地得出可靠数据, 相对于市场上一些昂贵的快速检测设备, 具有明显的价格优势和巨大的应用前景。

表 4 Cd 回收率测定

Table 4 Determination results of cadmium recovery

名称	Cd ($\mu\text{g/mL}$)	Cd 加入量/ $(\mu\text{g/mL})$		测量值/ $(\mu\text{g/mL})$		回收率/%	
		低浓度	高浓度	低浓度	高浓度	低浓度	高浓度
芹菜	0.009	0.1	0.4	0.115	0.046	106.0	92.50
空心菜	0.005	0.1	0.4	0.110	0.046	105.0	102.5
小白菜	0.010	0.1	0.4	0.115	0.050	105.0	100.0
黄瓜	0.003	0.1	0.4	0.106	0.039	103.0	90.00
卷心菜	0.005	0.1	0.4	0.110	0.046	105.0	102.5
土豆	0.004	0.1	0.4	0.106	0.046	102.0	105.0

参考文献

- [1] 韩磊,张恒东.铅、镉的毒性及其危害[J].职业卫生与病伤, 2009,24(3):173-177
- [2] GB 5009.12-2010.食品中铅的测定[S]
- [3] GB/T 5009.15-2003.食品中镉的测定[S]
- [4] 王颖,郭璇华.农产品中重金属铅、砷、铬、镉的前处理及检测[J].广州食品工业科技,2004,20(3):121-124
- [5] 罗道成,刘俊峰.铅-碘化钾-罗丹明 6G 共振瑞利散射法[J].化学试剂, 2007, 29(9): 574-578
- [6] 徐勉颢,潘祖亭,赵国宏等.镉-碘化钾-罗丹明 6G-阿拉伯胶高灵敏显色体系的研究[J].环境化学, 1990, 9(5): 57-60
- [7] T V Ramakrishna, G Aravamudan, M Vijayakumar. Spectrophotometric determination of mercury (II) as the ternary complex with rhodamine 6G and iodide [J]. Analytica Chimica Acta, 1976, 84: 369-375
- [8] K P Prathish, D James, J Jaisy, et al. Dual optoelectronic visual detection and quantification of spectroscopically silent heavy metal toxins: A multi-measurand sensing strategy based on Rhodamine 6G as chromo or fluoro ionophore [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 647: 84-89