

目 录

荧光和荧光分析法

第一章 荧光和荧光分析法	(3)
第一节 光的吸收.....	(4)
第二节 荧光.....	(7)
第三节 荧光的测量.....	(13)

无机化合物的荧光分析法

第二章 无机化合物的荧光分析法概述	(19)
第一节 无机化合物的直接荧光测定.....	(19)
第二节 无机化合物的荧光分析法类型.....	(23)
第三节 重要的有机荧光试剂.....	(28)
第三章 金属离子的荧光分析法	(38)
第一节 锂、钠、钾、铷、铯的荧光分析.....	(38)
第二节 铜、银、金的荧光分析.....	(45)
第三节 铍、镁、钙、锶、钡的荧光分析.....	(64)
第四节 锌、镉、汞的荧光分析.....	(95)
第五节 铝的荧光分析.....	(116)
第六节 镓的荧光分析.....	(138)
第七节 铟、铊的荧光分析.....	(158)
第八节 铊、钇的荧光分析.....	(171)

第九节	锗、锡、铅的荧光分析	(181)
第十节	钛、锆、铪的荧光分析	(194)
第十一节	铋、铊的荧光分析	(204)
第十二节	钒、铌、钽的荧光分析	(211)
第十三节	铬、钼、钨的荧光分析	(215)
第十四节	锰、锝、铼的荧光分析	(220)
第十五节	铁、钴、镍的荧光分析	(226)
第十六节	钨、钨、钨的荧光分析	(236)
第四章	稀土及铀、钍的荧光分析法	(240)
第一节	稀土及铀、钍的荧光分析法概述	(240)
第二节	稀土元素的荧光分析	(243)
第三节	铀的荧光分析	(254)
第四节	钍的荧光分析	(258)
第五章	常见非金属离子的荧光分析法	(262)
第一节	硼的荧光分析	(262)
第二节	硅的荧光分析	(276)
第三节	硝酸盐及亚硝酸盐的荧光分析	(277)
第四节	氰化物、氨和肼的荧光分析	(282)
第五节	磷的荧光分析	(287)
第六节	砷的荧光分析	(292)
第七节	氟的荧光分析	(294)
第八节	硫的荧光分析	(301)
第九节	硒的荧光分析	(310)
第十节	卤离子的荧光分析	(324)

有机化合物的荧光分析法

第六章 有机化合物的荧光分析法概述	(331)
第一节 有机化合物的荧光.....	(331)
第二节 有机化合物的荧光及其与结构的关系.....	(348)
第三节 有机化合物的荧光分析法.....	(358)
第七章 醇、酚的荧光分析	(366)
第一节 醇的荧光分析.....	(366)
第二节 酚的荧光分析.....	(382)
第八章 胺及含氮化合物的荧光分析	(395)
第一节 脂族胺的荧光分析.....	(395)
第二节 芳族胺的荧光分析.....	(410)
第三节 胍和脲的荧光分析.....	(414)
第四节 各种含氮衍生物的荧光分析.....	(423)
第五节 含氮杂环化合物的荧光分析.....	(428)
第九章 羧酸、羰基化合物的荧光分析	(433)
第一节 羧酸的荧光分析.....	(433)
第二节 氨基酸的荧光分析.....	(441)
第三节 羰基化合物的荧光分析.....	(446)
第十章 其它有机化合物的荧光分析	(454)
第一节 不饱和化合物的荧光分析.....	(454)
第二节 偕一聚卤化合物和巯基化合物的荧光 分析.....	(455)
第三节 糖和衍生物的荧光分析.....	(459)
第四节 甾族化合物的荧光分析.....	(467)

附 录

- 一、三元络合物在荧光分析中的应用.....(475)
- 二、一些有机物和药物的磷光数据.....(502)

第一章 荧光和荧光分析法

当紫外光照射到某些物质的时候，这些物质会发射出各种颜色和不同强度的可见光，而当紫外光停止照射时，这种光线也随之很快地消失，这种光线称为荧光。

利用某些物质被紫外光照射后所产生的、能够反映出该物质特性的荧光，以进行该物质的定性分析和定量分析，称为荧光分析。

荧光分析从一建立起，就引起人们普遍的重视，并很快在实际分析研究中推广使用。荧光分析发展至今，已被广泛应用于工业、农业、医药、卫生、司法鉴定和科学研究各个领域。可以用荧光分析鉴定和测定的无机物、有机物、生物物质、药物等的数量与日俱增。荧光分析法越来越成为分析化学工作者所必须掌握的一种重要分析方法。

荧光分析是由试样溶液所发生的荧光的强度来测定试样溶液中荧光物质的含量。荧光分析的灵敏度不仅与溶液的浓度有关，而且与紫外光照射强度及荧光分光光度计的灵敏度有关。对于光敏物质所允许的照明强度虽有所限制，但光度计的灵敏度却可以大大增加。因此，荧光分析的灵敏度一般都高过应用最广泛的比色法和分光光度法。比色法及分光光度法的灵敏度通常在千万分之几；而荧光分析法的灵敏度常达亿分之几，甚至有千亿分之几的。如果荧光分析法与纸层析或薄层层析等方法结合进行，还可能达到更高的灵敏度。

荧光分析法的另一优点是选择性高。这主要是指对有机化合

物的分析而言。因为凡是会发生荧光的物质，首先必须会吸收一定频率的光，但会吸收光的物质却不一定会产生荧光，而且对于某一给定波长的激发光，会产生荧光的一些物质发出的荧光波长也不尽相同，因而只要控制荧光分光光度计中激发光和荧光单色器的波长，便可能得到选择性良好的方法。

荧光分析法还有方法快捷，重现性好，取样容易，试样需要量少等优点。

荧光分析法也有它的不足之处。主要是指它比起其它方法来说，应用范围还不够广泛。因为有许多物质本身不会产生荧光，而要加强某种试剂才能达到荧光分析的目的，还需要广泛地研究。此外，对于荧光的产生和化合物结构的关系，尚需人们更加深入地研究。

关于荧光及荧光产生的机理，荧光的测量，荧光分光光度计及其应用，荧光分析法的种类和影响荧光与荧光分析的各种因素，《荧光分析法》中已有比较系统的论述。这里只简要重复提示一下，本书着重介绍实用的荧光分析方法，即各种无机物和有机化合物的实用分析方法，使我们掌握更多更好的荧光分析方法，更好地为生产和科研服务。

第一节 光的吸收

一般所谈的荧光现象，是指物质吸收紫外光后产生的可见荧光，以及吸收波长较短的可见光后发出波长较长的可见荧光。因此，要了解荧光，先得简单回顾一下光的吸收。

一、光的吸收

光具有波和光子二重性质。作为电磁波，光传播时上下振动。光的速度、波长及频率的关系由下式表示：

$$C = \nu \lambda$$

式中C为光在真空中的速度，约为 3×10^8 米/秒； ν 为光波的频率； λ 为波长。

电磁波的整个范围如下图所示：

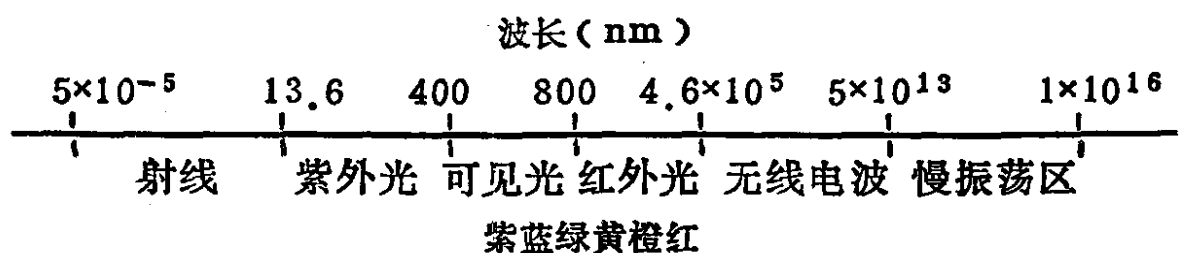


图 1—1 电磁波范围

可见光在整个电磁波范围内仅占极小部分，紫外光及红外光所占的部分也有限。

各种物质的分子具有不同的结构，因而具有它们特殊的频率。当所照射的光线和被照射的物质分子具有相同频率时，则发生共振现象，即光被该物质吸收。

物质分子在吸收光的过程中发生了能量的转移。根据量子说，分子从光线中吸收了细小单位的能量，这些细小单位称为量子。所吸收的能量可由下式表示：

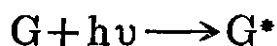
$$E = h\nu = hC/\lambda$$

式中E为所吸收的能量，h为普朗克常数，C为光的速度， λ 为光的波长。

分子的能量由以下几种组成：原子中的电子产生的电子能，分子围绕它的重心旋转产生的转动能，以及由原子沿着它们的核间轴做彼此间相对的弹性振动而产生的振动能。当一个分子吸收可见光辐射时，经过一个量子跃迁，它的电子能从基态升至较高的能级，但也发生转动能和振动能级的变化，因为这三种能量是互相依存的。由此，代替相应于许可量子化电子跃迁的离散谱线，是在可见光波段内存在的宽而非特征最大值的吸收曲线。

二、伯格—朗伯—比尔定律

在基态G的一个分子，吸收一个光子 $h\nu$ 可用下式表示：



G^* 表示在较高能级的分子，它能迅速地回到基态（一般在 10^{-8} 秒之内），而且其吸收的辐射能通常转换成热能。

这种反应能被看作是在G和 $h\nu$ 间的一个不可逆的二分子反应，所以它的反应速率可这样表示：

$$V = \frac{d[h\nu]}{dt} = K_1 [G] [h\nu] \quad (1)$$

$[h\nu]$ 与光的强度成正比： $[h\nu] = K_2 I$ 。 $[G]$ 是有色物的浓度C， dt 与在这段时间中光子所走的距离 dl 成正比： $dt = K_3 dl$ 。这样式子(1)可改写成下式：

$$-\frac{dI}{dl} = K' CI$$

或：

$$-\frac{dI}{I} = K' C dl \quad (2)$$

假如有 I_0 代表入射光的强度，而用 I 代表透过厚度为 l 的样品池后光的强度，即透光强度，将式(2)积分，得：

$$\frac{I}{I_0} = e^{-k'cl} \quad (3)$$

或换算成下式($K = 0.4343K'$)，

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-kcl} \quad (4)$$

T 是溶液的透射比，即透过溶液的辐射能与入射能之比。吸收系数 A 代表透射比的负对数：

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I} = kcl \quad (5)$$

从等式(5)中可以看出,吸收系数正比于溶液的厚度(伯格—朗伯定律)和吸收物的浓度(比尔定律)。

只有在一定的条件下,这个论证才有效。公认的条件是:

1. 所有的基态分子G并不同时被带到激发态上。
2. 所有的光子都是同一的,即光是单色光。
3. 所有的光子以相同的光程通过溶液,即入射光是平行光束,而吸收样品池有扁而平的入口和垂直于入射光束的出口。

等式 $T = 10^{-kcl}$ 和 $A = KCL$ 表明,倘若满足条件1的话,透射比和吸收系数与入射光的强度无关。

第二节 荧 光

荧光是分子从激发态的最低振动能级回到它原来的基态时发射的光,激发的完成是由于光的吸收。吸收与荧光密切相关,因为吸收必须先于荧光发射。由于碰撞和热的耗散常使一部分吸收能丧失,剩余荧光的能量比吸收的能量小,因此荧光在更长的波长发射。

一、荧光的定量关系

在光的吸收中已经指出,在适宜的条件下,假如 I_0 代表入射光的强度, l 代表样品池的厚度,而 C 代表所研究产物的浓度,则发射光的强度可用下式表示:

$$\frac{I}{I_0} = e^{-kcl} \quad \text{或} \quad I = I_0 e^{-kcl}$$

于是吸收光量为:

$$I_0 - I = I_0 (1 - e^{-kcl})$$

假如化合物是荧光物质，则吸收光的一部分转换成荧光。吸收光的量子与发射光的量子之比为 Φ ，称为荧光效率。许多物质的 Φ 近乎独立于激发波长和稀溶液的浓度。因此，荧光强度 F 可以这样表示：

$$F = \Phi (I_0 - I) = \Phi I_0 (1 - e^{-kcl}) \quad (6)$$

将指数项展开，我们得到：

$$e^{-kcl} = 1 - KCL - \frac{K^2 C^2 L^2}{2!} - \frac{K^3 C^3 L^3}{3!} \dots \dots \quad (7)$$

如果所用溶液是稀溶液，则后面各项可以忽略。等式(6)能改写成下式：

$$F = \Phi I_0 KCL \quad (8)$$

假如 C 以每升的克分子数表示， $K = \epsilon$ ，则等式(8)成为：

$$F = \Phi I_0 \epsilon CL \quad (9)$$

当然， ϵ 的值与激发波长相对应。

由等式(9)可以得出几个结论。

1. 荧光强度与克分子吸收系数成正比。因此激发光谱将是吸收光谱的复制品，而且用相当于最大吸收的激发波长激发将得到最高的荧光强度。

2. 荧光强度与荧光产物的浓度成正比。因此，在适宜的条件下，校准曲线将是直线。

3. 吸光度值与入射光的强度有关，荧光强度与激发光的强度成正比。因此可以认为荧光分光光度计比吸收分光光度计更灵敏。极低强度的光能用现代的光电管测量，而很强的激发光由氙弧灯源产生。

二、荧光的产生

(一) 荧光光谱与吸收光谱的“镜像对称”现象及荧光的产生。

如果使激发光的波长和强度保持不变，而让荧光物质所产生的荧光通过单色器而照射于探测器上，移动单色器至各种不同波长并由探测器测出荧光强度，然后以荧光强度对照着荧光波长所绘成的曲线称为该荧光物质的荧光发射光谱，简称荧光光谱。荧光光谱表示在该物质所产生的荧光中各种不同波长组分的比较强度。在建立荧光分析方法时必须根据荧光光谱来选择适当的测定波长或滤光片，这和分光光度法须根据吸收光谱来选择适当的测定波长或滤光片一样。因此，荧光光谱对于荧光分析具有重要意义。

由上面的等式中，可以看出激发光谱将是吸收光谱的复制品。在光谱分析中，这种现象称为“镜象对称”。如下图所示：

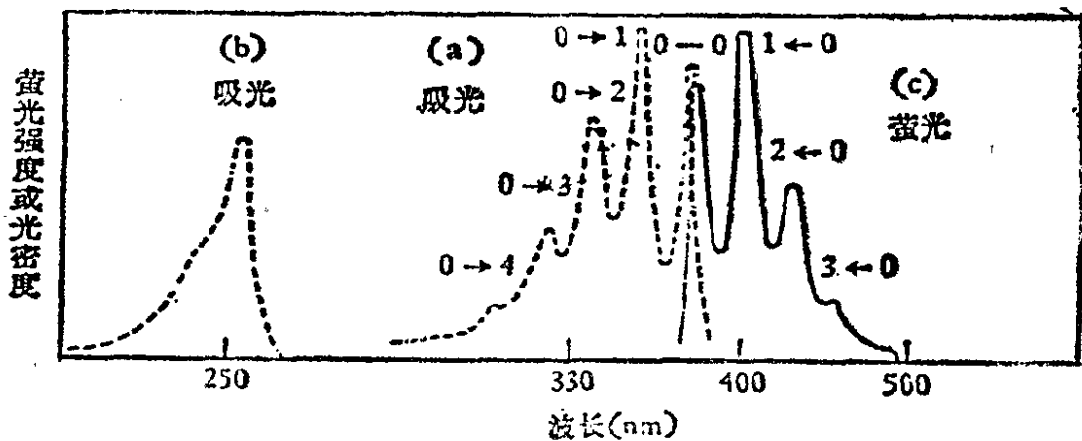


图 1—2 葱的乙醇溶液的荧光光谱（右）和吸收光谱（左）

如何解释荧光光谱和吸收光谱的“镜象对称”关系，就得出吸收光谱和荧光光谱形成的原因来解释。大多数分子在室温时均处在基态的最低振动能级，当物质被光线照射时，该物质的分子吸收了和它所具有的特征频率相一致的光线，而由原来的能级跃迁至第一电子激发态或第二电子激发态中各个不同振动能级和各个不同转动能级，如图 1—3 所示。

大多数的分子在吸收了光而被激发至第一或以上的电子激发

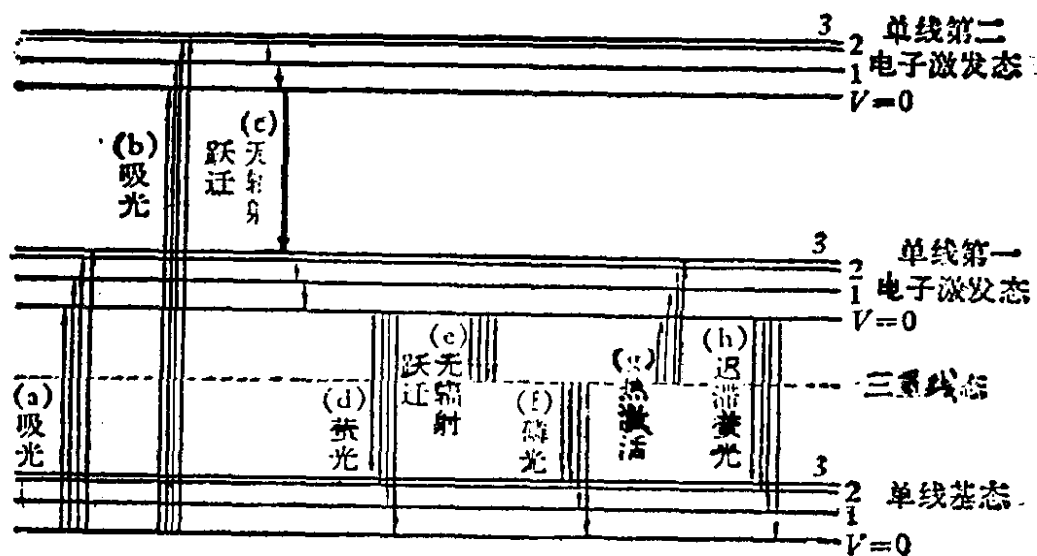


图 1—3 吸收光谱和荧光光谱能级跃迁示意图

态的各个振动能级之后，通常急剧降落至第一电子激发态的最低振动能级，在这一过程中它们和同类分子或其它分子碰撞而消耗了相当于这些能级之间的能量，因而不发出光。即无辐射跃迁。由第一电子激发态的最低振动能级继续往下降落至基态的各个不同振动能级时，则以光的形式发出，所产生的光即是荧光。

由此可以看出，荧光的发生是由第一电子激发态的最低振动能级开始的，而和荧光物质分子被激发至哪一能级无关。因此，荧光光谱的形状和激发光的波长无关。其次，吸收光谱中第一吸收带的形成是由于该物质分子由基态被激发至第一电子激发态中各个不同能级，所以吸收光谱的第一吸收带的形状决定于第一电子激发态中能级的分布的情况；荧光光谱的形成是由于激发分子由第一电子激发态中最低振动能级降落至基态中各个不同能级，所以荧光光谱的形状决定于基态中能级的分布情况。基态中能级的分布和第一电子激发态能级的分布情况是类似的，因此，荧光光谱的形状和吸收光谱极为相似。但是，在相当于由基态中最低

振动能级跃迁至第一电子激发态各个振动能级的吸收峰中，第一电子激发态的振动能级越高，两个能级之间的差距越大，吸收峰的波长越短；相反地，在相当于由第一电子激发态的最低振动能级降落至基态各个振动能级的荧光峰中，基态的振动能级越高，两个能级之间的差距越小，荧光峰的波长越长。所以，荧光光通过无辐射谱和吸收光谱的形状虽相似，却是呈镜像对称关系。

某些物质的分子在被激发光激发至较高的能级并跃迁降落至第一电子激发态的最低振动能级之后，并不继续直接降落至基态，它们通过另一次无辐射跃迁至一个中间的亚稳能态——三重线态。这些分子在三重线态稍事逗留后，再发出辐射而下降至基态各振动能级，所发出的辐射即为磷光。因自三重线态降落至基态时所给出的能量比由第一电子激发态的最低振动能级直接降落至基态时给出的能量小些，所以磷光的波长比荧光的波长稍为长些。

某些分子在跃迁至三重线态之后，通过热激活作用可以再回到第一电子激发态的各个振动能级，然后再由第一电子激发态的最低振动能级降落至基态而产生荧光，这种荧光称为迟滞荧光。

（二）产生荧光的过程和条件。

荧光物质产生荧光的过程，可以分为这样四个步骤：

1. 处于基态最低振动能级的荧光物质分子受到紫外线的照射，吸收了和它所具有的特征频率相一致的光线，跃迁到第一电子激发态的各个振动能级；

2. 被激发到第一电子激发态的各个振动能级的分子，通过无辐射跃迁，降落到第一电子激发态的最低振动能级；

3. 降落到第一电子激发态的最低振动能级的分子，继续降落到基态的各个不同振动能级，同时发射出相应的光量子，这就是荧光；

4. 到达基态的各个不同振动能级的分子，再通过无辐射跃

迁最后回到基态的最低振动能级。

由此可见，产生荧光的第一个必要条件是：该物质的分子必须具有与所照射的光线相同的频率，这与分子的结构密切相关。产生荧光的第二个必要条件是：吸收了与其本身特征频率相同的能量之后的分子，必须具有高的荧光效率。许多会吸光的物质并不一定会产生荧光，就是由于它们的吸光分子的荧光效率不高，而将所吸收的能量消耗于与溶剂分子或其它溶质分子之间的相互碰撞的缘故，因此无法发出荧光。某些化合物的荧光效率，如下表所示。

表 1—1 某些化合物的荧光效率

化 合 物	溶 剂	荧 光 效 率
荧光素	水, PH 7	0.65
荧光素	0.1N氢氧化钠	0.92
曙红	0.1N氢氧化钠	0.19
罗丹明B	乙醇	0.97
1-氨基-萘-3,6,8-磺酸盐	水	0.15
1-二甲氨基-萘-4-磺酸盐	水	0.48
1-二甲氨基-萘-5-磺酸盐	水	0.53
1-二甲氨基-萘-7-磺酸盐	水	0.75
1-二甲氨基-萘-8-磺酸盐	水	0.03
9-氨基吖啶	水	0.98
葱	己烷	0.31
葱	乙醇	0.30
核黄素	水, PH 7	0.26
乙酸铀酰	水	0.04
芴	乙醇	0.54
菲	乙醇	0.10
萘	乙醇	0.12
水杨酸钠	水	0.28
邻甲苯磺酸钠	水	0.05

续表

化 合 物	溶 剂	荧 光 效 率
酚	水	0.22
吲哚	水	0.45
叶 绿 素	苯	0.32

第三节 荧光的测量

一、荧光分光光度计

测定微量荧光物质的含量，常用荧光分光光度计。关于荧光分光光度计的结构及使用，随制作型号的差异各有不同，这在许多文章及厂家的商品说明中都有详细介绍，这里不再作专门的讨论。但是，总的说来，任何荧光分光光度计的基础部分是光源、聚焦系统、激发单色器、样品室、荧光单色器、光电管、光电管电流放大器、微安计和记录器。

在荧光分析场合下，激发是由于吸收紫外或可见光而完成的，因此其光源应该能发射紫外或可见光。早期的荧光分光光度计，配有能产生很窄汞线的低压汞灯。使用高压汞灯，谱线被加宽，而且也存在高强度的连续带。然而，一个完整的激发光谱的测定需要一种能发射从可见到紫外范围的较高强度的光辐射的灯。氙弧灯能适于此条件，因此，它是目前在荧光分光光度计中最广泛使用的光源。

在荧光分光光度计中，其单色器是棱镜或光栅，配有激发和发射两种单色器。由激发单色器所选择的光辐射从样品中发出。这样产生的一部分荧光射到分析器的单色器上，然后，由这种单色器选择的发射光辐射打到光电管上，形成一种增益电流，它被

放大后传送到微安计或记录器上。因此，单色器的一般安排是射到分析器上的荧光束处在激发光束的右角，这样对散射的激发光和从样品池壁发生的荧光有限制作用。

倘若光电管响应与入射光的强度成线性关系，则微安计指针的偏转与荧光强度成正比例。但如此得到的只是相对值。

二、荧光激发光谱及荧光光谱的记录过程

记录荧光激发光谱的过程是：发射单色器波长读数固定在某个荧光波长位置上，而让激发单色器波长根据所需波长范围进行扫描，样品光电倍增管就记录了某波长荧光强度随激发波长变化的关系曲线，即荧光激发光谱；记录荧光光谱的过程是：固定激发单色器在某适当波长位置照明样品，让发射单色器波长扫描，样品光电倍增管就记录了样品荧光强度随不同荧光波长变化关系曲线，即荧光光谱。

三、荧光分析法

最简单的荧光分析法是直接比较法，即取已知量的荧光物质配成一标准溶液，测其荧光强度，然后在同样条件下测定试样溶液的荧光强度。由标准溶液的浓度和两个溶液的荧光强度的比值求得试样中荧光物质的含量。这种方法常带来较大的误差，因为荧光强度和溶液浓度并不完全呈线性关系，所以现在很少采用这种方法。

荧光分析一般多采用工作曲线法，即以已知量的标准物质经过和试样一样的处理后，配成一系列标准溶液，测定这些溶液的荧光强度，以荧光强度对标准溶液绘制工作曲线。然后测定试样溶液的荧光强度，由试样溶液的荧光强度和工作曲线求出试样中荧光物质的含量。

在用荧光熄灭法测定某些会引起荧光熄灭的微量物质时，可

采用“差示荧光法”，可使荧光强度的读数的差距拉开，使荧光强度的降低加大，从而提高了方法的灵敏度和准确度。

随着荧光分光光度计制作技术的不断发展，现在都配有先进的控制系统。分析工作者只需将分析样品放入光度计内，所需的谱图及分析数据都能立即得到，这不仅给分析工作者带来操作上的方便，而且将促进荧光分析法更快的发展。



无机化合物的荧光分析法



第二章 无机化合物的荧光分析法概述

第一节 无机化合物的直接荧光测定

无机化合物中，会发生荧光的纯粹化合物为数不多。第八族元素、过渡元素及稀土元素的顺磁性原子会发生线状荧光光谱。碱金属及碱土金属的卤化物，例如氯化钠和氟化钙，会发生紫外光荧光。其它一些无机化合物，由于有痕量活化剂的杂质存在，虽然也有荧光，但在荧光分析中的应用不大。

无机化合物的直接荧光测定常有两种类型。

一、固体结晶化合物

虽然许多结晶化合物都具有荧光，但它们能用于分析的却很少。

有两种不同的情况应该加以区别，即一种是化学纯物质的荧光，另一种是多组合体系的荧光。在多组合体系中，结晶物中含有痕量的杂质离子，这些离子具有活性，即作为激活剂存在，能观察到它们的荧光。在直接荧光测定中，必须予以注意。

参考文献总结了一些化学纯的无机化合物可以作为荧光物。另外，也报导了一些无机盐的水溶液的荧光，如卤化镭和钨酸盐、钼酸盐。有些无荧光的盐在温度低于零度时可以成为荧光物。

文献研究了许多“纯”盐碘化银、碘化汞、碘化钼、硫化镉的低温荧光光谱。在无机化合物的分析中，使用低温已成了常规的操作方法。

多组合体系的荧光（如矿物）已成功地用于稀土元素和铀的检测。然而，对于其它元素的检测都是很困难的，因为它们没有象稀土元素那样的原子结构。它们的荧光光谱很宽，主要取决于整个晶体的结构。例如，在硫化锌中的锰，其荧光是橙色，在磷酸镉中为红色，而在硅酸锌中为黄绿色。另外，使用不同的激活剂，其物质的荧光颜色也不同。例如，硫化锌的荧光，被锰激活时显橙色荧光，被铜激活时显黄绿色荧光，而被银激活时显蓝色荧光。

因此，直接检测多组分晶体的荧光，不能作物质或杂质的特性检测，只有在分离后才有可能这样做。

二、用无机试剂分析无机离子

Belzi和Kushnirenko在 -196°C 的冰冻条件下，在盐酸或氢溴酸中分析了砷（Ⅲ）和砷（Ⅴ）。砷（Ⅲ）和砷（Ⅴ）的检测灵敏度分别为：在7.6M盐酸中是0.15和37ppm，在7.6 M 氢溴酸中是7.5和3.7ppm。在其它的文献中〔36〕报导了铋、锑和硒的分析方法。在盐酸中，能检测小于2.1ppb的铋，60ppb的硒和1 ppb的锑。其荧光光谱见表（2—1）：

有人在 -196°C 时，在浓盐酸中分析了铋、铅和锑，报告的波长是：铋： $\lambda_{\text{ex}}312\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}410\text{nm}$ ；铅： $\lambda_{\text{ex}}260\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}385\text{nm}$ 。检测限度是 $10^{-5}\%$ 铅， $10^{-6}\%$ 铋，和 $10^{-7}\%$ 锑。

在无机酸溶液中也能观察到铋（Ⅲ）的荧光。在稀盐酸中，铋（Ⅲ）显出特征荧光，激发峰为258nm，荧光峰为350nm。在镉、钇和铈存在下，能检测小于1 ppm的铋。如存在硝酸根、铁离子和四价铋离子，则能观察到很强的熄灭效应。有人用硫酸

表 2—1 在盐酸和氢溴酸中, 铋、锑和硒的荧光光谱

离子名称	荧光光谱			
	$\lambda_{ex}(\text{nm})$		$\lambda_{em}(\text{nm})$	
	在盐酸中	在氢溴酸中	在盐酸中	在氢溴酸中
铋	340	380	420	487
锑 III	314	360	625	640
硒 IV	305, 330	352	390	550

钛在高氯酸中将铈还原成铈(III), 然后在355nm(λ_{ex} 260nm)处测量。可检测在氧化铈中的铈至小于0.1ppm。

有人用检测铈(III)的荧光来间接分析铁(II)、砷(III)、草酸根、碘(I)和钼(VIII), 可分别检测至5.6、7.5、8.8、0.6和0.5ppm。此法是根据这些化合物能将铈(IV)还原到铈(III)这一原理, 然后在 λ_{ex} 250和 λ_{em} 360nm处测铈(III)的荧光。

根据醋酸铀酰和碘化物反应的原理, 可以建立碘离子的荧光分析方法。在 λ_{ex} 365和 λ_{em} 520nm处测荧光。在许多其它阴离子和阳离子存在下, 可检测2到20 μg 碘离子。最严重的干扰来自硫氰酸根。

也有人在含有0.8M氯化钾的盐酸溶液(3:10)中, 用荧光分光光谱法检测铅。在15分钟内于 λ_{ex} 270和 λ_{em} 480nm处测量。当50倍铅量的铋、铬(IV)、铜(II)、铁(III)、钼(IV)、铈(I)、钒(V)、 $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ 和抗坏血酸存在时, 能产生干扰。

kirkbright等在-196 $^{\circ}\text{C}$ 时于9M盐酸“玻璃”中检测 Te^{4+} 的荧光, λ_{ex} 380nm, λ_{em} 586nm, 检测灵敏度0.02至0.64ppm。此法可在许多其它离子存在时检测铅中的钼。50倍量的铁(III)、锡(II)和碘(I)有干扰。

铈(I)和铈(III)可在用氯化钠饱和的3N盐酸中作荧光

检测，灵敏度为0.01至50ppm。有人发现，在-196℃时在类似玻璃的8N盐酸、氢溴酸、氯化锂和溴化锂的冰冻溶液中，能检测铊(I)和铅(II)的荧光，灵敏度分别为50ppb和10ppb。在盐酸中，铊(I)和铅(II)的激发峰分别为242nm和272nm，荧光峰为396nm和423nm；在氢溴酸中，荧光峰分别为428nm和424nm，激发峰对铊(I)为223nm和262nm，对铅(II)为225nm和302nm。

用无机试剂分析无机离子的结果列于下表中。

表2—2 用无机试剂分析无机离子的结果

离子名称	试 剂	灵敏度(ppm)
砷	铈(IV)	7.5
	盐酸或氢溴酸	0.15
铋	盐酸或氢溴酸	0.002
草酸根	铈(IV)	8.8
铈	盐酸	1.0
	高氯酸	0.1
亚铁离子	铈(IV)	5.6
碘离子	铈(IV)	0.6
钼	铈氧基	2.0
铅	铈(IV)	0.5
	盐酸	0.1
	氢溴酸或氯化锂	0.01

续表

离子名称	试 剂	灵敏度 (ppm)
铈	盐酸或氢溴酸	0.001
硒	盐酸或氢溴酸	0.06
铊	盐酸	0.02
铊	盐酸, 氢溴酸或 氯化锂, 氯化钠	0.05 0.01

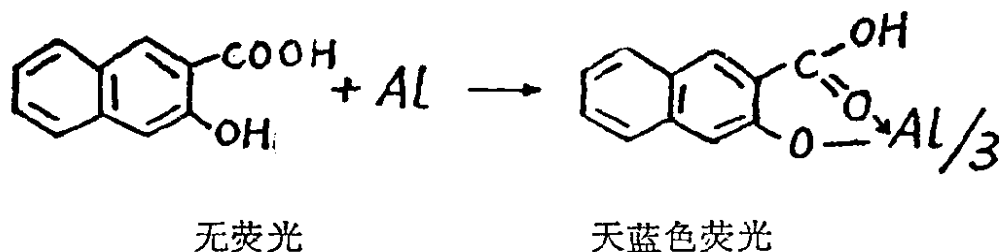
第二节 无机化合物荧光分析法的类型

用荧光分析方法测定溶液中的无机离子, 一般有下列三种类型。

一、将无机离子溶液加至适当的无机试剂 (如盐酸, 氢溴酸等) 中, 直接检测离子的化学荧光。结果见第一节之二。

二、无机离子与一种无荧光的有机配位体化合, 生成一种高荧光的金属络合物。

以铝 (III) 与 3-羟基-2-萘甲酸为例, 其反应式如下:



这种类型是无机物荧光分析法中最常用的一种。用这种方法来测定的金属离子已超过60多种。

金属离子与有机配位体所形成的络合物的发光能力, 与金属

离子以及有机配位体结构上的特性有很大关系。金属离子的影响，主要是氧化态和原子序数。具有抗磁形式结构的金属离子将会形成强发光的络合物，而顺磁形式的则不能。对于与同一种有机试剂形成络合物的不同金属离子来说，其原子序数越大，相对荧光强度越小，吸收峰和发射峰也都越往长波方向移动。

对于有机配位体来说，一个好的配位体通常具有使金属螯合系统能够排列成五节或六节环的官能团。用于荧光分析的有机试剂数目繁多，都具有这种官能团。

金属离子与有机试剂所形成的会发荧光的络合物，可以分为三种类型，即 $L^* \rightarrow L$ 发光、 $m^* \rightarrow m$ 发光和 $m^* \rightarrow L$ 或 $L^* \rightarrow m$ 发光。

假设金属离子 m 与配位体 L 形成发光的络合物 mL ， mL 分子受到紫外光的激发后发生了电子的跃迁。跃迁的方式也有三种：

(1)基本上局限于金属的跃迁， $m \rightarrow m^*$ ，即从金属离子的基态跃迁到金属离子的激发态；(2)基本上局限于配位体的跃迁， $L \rightarrow L^*$ ，即从配位体的基态跃迁到配位体的激发态；(3)包括电荷转移的跃迁， $L \rightarrow m^*$ 或者 $m \rightarrow L^*$ ，即从配位体的基态跃迁到金属离子的激发态，或者从金属离子的基态跃迁到配位体的激发态。如图2—1所示。

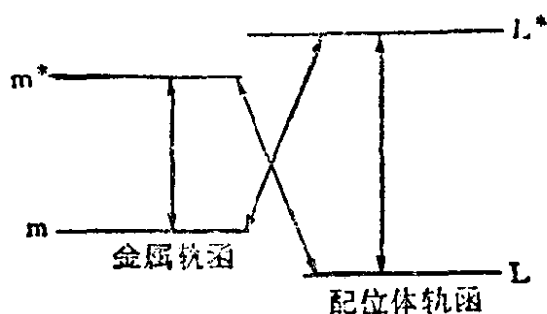


图2—1 三种跃迁类型

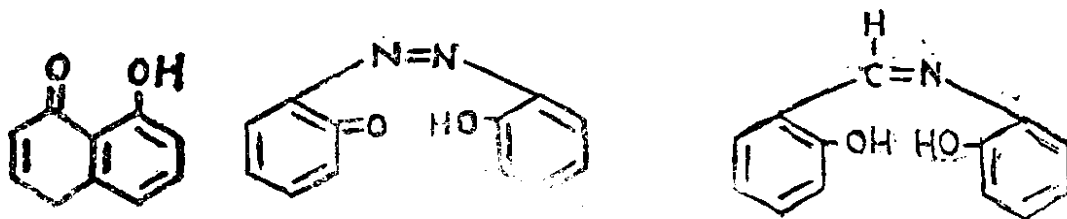
mL 分子被激发之后，吸收了紫外光的能量，很快地由于振动而松弛，并从内部转变到最低激发的单线零振动能级。接着，便相应地出现了三种类型的发光：

(一) $L^* \rightarrow L$ 发光。绝大多数的发光络合物是属于这一类型。因为一般 $L \rightarrow L^*$ 跃迁是强的，而 $m \rightarrow m^*$ 跃迁是微弱的。这种类型发光的光谱，基本上只是受到存在的金属离子微扰的配位体的荧光光谱，但是同一配位体与不同金属离子所形成的络合物的发光强度取决于金属离子。属于这一类型发光的金属离子，通常都具有一个充满了的次外电子层，因而是抗磁性的，而且还是不容易被还原的。

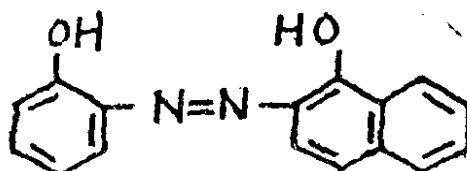
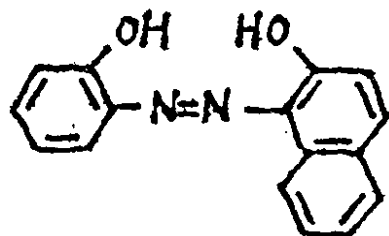
(二) $m^* \rightarrow m$ 发光。这种类型发光的光谱，基本上只是受到存在的配位体微扰的金属的荧光光谱，但是同一金属离子与不同配位体所形成的络合物的发光强度主要取决于配位体。例如，三价镧离子与二苯甲酰甲烷所形成的络合物具有配位体的特征发射，是属于 $L^* \rightarrow L$ 发光；而三价镧离子与苯酰丙酮所形成的络合物具有金属离子的特征发射，是属于 $m^* \rightarrow m$ 发光。

(三) $m^* \rightarrow L$ 或 $L^* \rightarrow m$ 发光。属于这一类型的发光络合物最少。形成这种类型发光络合物的金属离子一般都容易氧化，而且必须是抗磁性的。配位体的 π 、 π^* 之间的能量差异应该很小，还应该能够提供一个大的d-轨函分裂。

能够与金属离子形成会发生荧光络合物的有机试剂，绝大多数是芳族化合物，而且最常见的是芳香环上具有两个可以与金属离子形成螯合物的官能团，如 $>C=O$ ， $-OH$ ， $\geq N$ ， $-SH$ ， $-NH_2$ 等。如，具有下列官能团

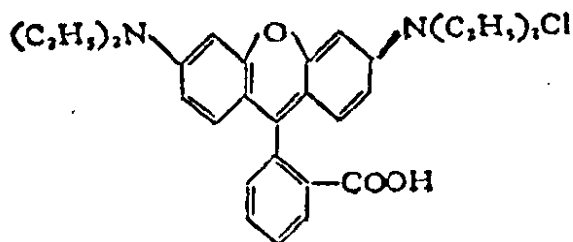


的羟基蒽醌染料和偶氮染料与铝、铍、镓、钪、铟、钽、铈、汞等离子所形成的络合物在紫外光照射下会发生荧光。具有下列官能团的染料

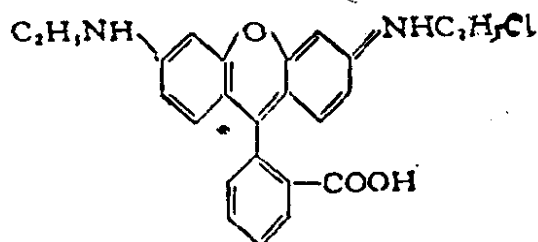


与 Ga^{+3} 离子络合形成荧光产物。

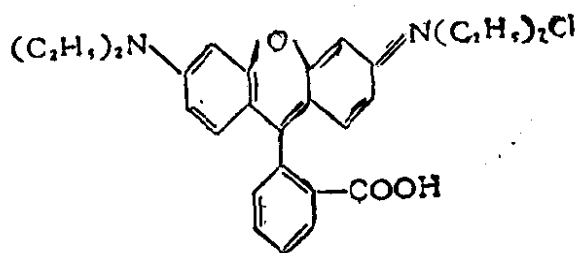
罗丹明染料如



罗丹明 3 B



罗丹明 6 G



罗丹明 B

与 Ga^{+3} 离子所形成的络合物，可被苯萃取，萃取液在紫外光照射下会发生黄绿色荧光。

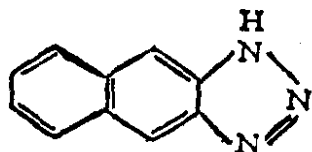
为了提高这一类型分析方法的灵敏度和测定金属离子的选择性，经常对有机配位体进行各种改造，例如在不同的位置进行各

种取代基的取代等。另外，寻求新的有机试剂，以使这类分析方法在无机化合物的荧光分析中得到更广泛的应用。能与金属离子形成强荧光螯合物的最常见的有机配位体有：2, 2'-二羟基偶氮染料，8-羟基喹啉和它的衍生物，黄酮，水杨叉化合物，水杨酸，安息香，罗丹明B、6 G和S，水杨醛，β-二酮，羟基萘甲酸和羟基蒽醌。在一些特殊的应用中，还能发现一些其它的配位体，新的试剂还在不断的补充进来。

三、间接测定离子熄灭配位体荧光的量，或者能使配位体释放，然后与合适试剂反应生成荧光产物。

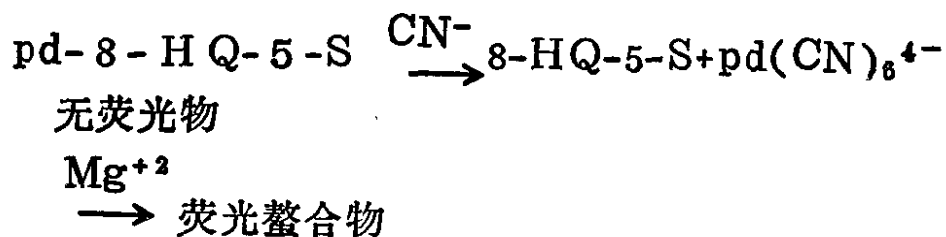
这种类型的分析方法，又可分成两种。一种是有机配位体本身是会发荧光的化合物，它与无机离子络合后，使配位体原有的荧光强度减弱。测量荧光减弱的程度，即可间接测出离子的浓度。

例如，2, 3-萘三氮杂茂



的水溶液在紫外光照射下会发生强烈的紫色荧光。它的 $\lambda_{ex}362\text{nm}$ ， $\lambda_{em}406\text{nm}$ 。溶液的荧光强度随着银离子含量的增大而减弱。根据这一原理，建立了银的荧光分析方法，检测灵敏度可达0.025—0.1微克银/毫升。

另一种是加入无机离子后，能使有机配位体释放，然后再与合适试剂反应生成能发生荧光的络合物。例如，用8-羟基喹啉-5-磺酸与钯的络合物来检测氰根：



在这个反应中，8-羟基喹啉-5-磺酸钾和二价钯离子所组成的络合物，在碱性溶液中，在紫外光照射下并不发生荧光，

但在氰化物存在时，氰根离子从该络合物中夺取铝离子以组成 $\text{pd}(\text{CN})_6^{4-}$ 络离子，而定量地释放出8-羟基喹啉-5-磺酸钾。这时候如导入 Mg^{+2} 离子，它将与8-羟基喹啉-5-磺酸钾组成会发生荧光的镁络合物。由镁络合物的荧光强度可以间接求出氰根的含量。由此建立了氰根离子的荧光分析方法，检测范围为0.1—0.8微克/毫升。

无机化合物的荧光分析法，除了上述三种类型外，还有催化荧光法。即某些反应产物虽能发生荧光，但反应进行非常缓慢，荧光微弱难以测定。在微量金属离子的催化作用下，反应将迅速地进行，可由在给定时间内所测定的荧光强度来测出该金属离子的浓度。相反地，有些微量金属离子的存在，将促使荧光物质转化为非荧光物质或阻止荧光物质的生成，从而导致溶液荧光的熄灭，从在给定时间内荧光强度的降低程度也可以测定该金属离子的浓度。这类荧光分析法的例子不多，只有铜、铍、铁、钴、钡及过氧化氢的测定，但方法的灵敏度高。

第三节 重要的有机荧光试剂

利用有机荧光试剂与金属离子生成荧光化合物是无机化合物荧光分析的主要方法。所以，有机荧光试剂的发展对研究无机化合物的荧光分析法具有重要意义。据文献报导，到1984年为止，已有上百个有机试剂应用于无机离子的荧光分析中。重要的有机荧光试剂归类如下。

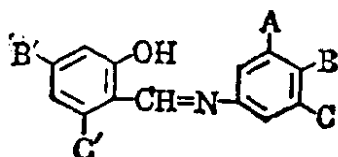
一、脲类及其类似物

脲类衍生物是近年来应用很广泛的荧光试剂。最常用的有下列几种：

(一) 芳香希夫碱型脲类。

这类型脲，是由芳香族胺类与羟基苯甲醛缩合而成，其基本

结构为：



其中—HC=N—结构是易流动的电子桥。A通常为给电子活性配位基如—OH。它们与金属离子 M^{n+} 络合时，构成一个平面，刚性，大π共轭的荧光特征结构。许多希夫碱型脘都能与金属离子络合而生成荧光化合物。例如：

1. 当A=OH, C=Br(未指明的位置均为H, 以下同)时, 试剂与铝离子, 镓离子, 铍离子都能发生灵敏的荧光反应。若B和B'位均为卤代, 可使铝和镓络合物的荧光光谱红移, 而铍络合物的荧光光谱紫移, 试剂的选择性提高。检测极限为0.2ppb铝, 2ppb镓, 1.2ppb铍。

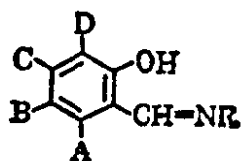
2. 当A=OH, C=SO₃H时, 试剂对铍有更高的选择性。在PH9.7, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=343nm/430nm$ 时, 可以测定0.4ppb铍。在pH3.8, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=410nm/500nm$ 时, 可以测定高纯铝中50ppb的镓。

3. 当A=COOH或A=ASO₃H₂, B'=C'=OH时, 试剂为铍的灵敏荧光试剂。

4. 当A=OH, B=OCH₃时, 试剂与铝, 镓和铍都能形成荧光络合物。通过控制分析条件, 可以分别测定。

(二) 水杨基甲酰脘及其衍生物。

此类脘的基本结构为：



1. 当R=NHCHO时为水杨醛甲酰脘, PH2时与四价锆生

成 1 : 2 荧光络合物; PH_{6.3}时, 与锌离子生成 1 : 1 荧光络合物。在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=378\text{nm}/468\text{nm}$ 时, 可以测定ppb级的镉和锌。

2. 当 $R=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$ 时, 与镁离子生成荧光络合物, 可检测至ppm级。

3. 当B=OH, R=NHCONH₂时, 试剂对镓灵敏。

4. 当R=NHCONH₂时, 试剂可检测镓和铟。

(三) N-杂环脲。

N-杂环是脲是一类有用的荧光试剂, 用于荧光测定金属离子的有:

苯并吡唑—2—醛—喹啉脲, 锌的荧光试剂, 检测灵敏度为 1 ppb 锌;

二吡啶乙二醛二苯脲, 金的荧光试剂, 检测灵敏度为 1 ppm 金;

异烟碱醛—2,4—二羟基苄基脲, 铅的荧光试剂, 检测灵敏度为 0.05ppb;

吡哆醛菸酰脲, 锌、镁的荧光试剂, 检测灵敏度为 5 ppb 锌、2.5ppb 镁。

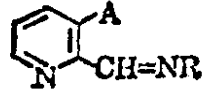
苄基—2—吡啶酮—2—吡啶脲, 镓的荧光试剂 (PH₅时), 检测灵敏度为 1.4ppb; 镉的荧光试剂 (PH₃时), 检测灵敏度为 11ppb。

另外, 2,2'—双吡啶酮脲被三价金、铂离子、二价铜、汞离子催化氧化生成荧光物质, 可用于它们的催化荧光分析。在不同的PH值条件下, 可检测ppb级汞, 铜、金和ppm级铂。

(四) 皮考啉醛脲的衍生物。

这一类脲既是具有多齿配位基的荧光试剂, 又是可被金属离子催化氧化产生新荧光物质的动力荧光分析试剂。其基本结构

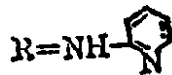
为,



1. 当A=OH, R=NHCSNH₂时, 为镁、锰离子的动力催化荧光试剂, 检测灵敏度为5 ppb镁, 2 ppb锰。

2. 当A=NH₂, R=NHCSNH₂时, 为镁的检测试剂, 但灵敏度不高。

3. 当A=OH,



则是铝的络合荧光试剂。

在PH=4.7时, 形成1:1络合物, 检测灵敏度为2 ppb。此试剂也可用于检测钴, 灵敏度为20ppb。

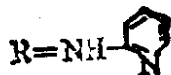
4. 当



时, 则是镓的荧光试剂, 在PH=

4.5时, 于0.8%乙醇溶液中, 具有很高的灵敏度, 可检测人尿中0.8ppb的镓。λ_{ex}380nm, λ_{em}445nm。

5. 当



时, 则是钛的络合荧光及催化荧光

试剂。

二、蒽醌类

这类试剂检测灵敏度不高, 但可在水相进行荧光测定, 较为方便, 因此主要用于碱金属及碱土金属离子的测定。

常用的蒽醌类荧光试剂为蒽醌的羟基或氨基衍生物。例如:

1,5-二羟基蒽醌在PH=9时, 于90%乙醇介质中与镁离子生

成 1 : 1 荧光络合物, 检测灵敏度为 10ppb; 1,8—二羟基蒽醌与镁也生成 1 : 1 荧光络合物。在 10% 碱性丙铜介质中, 也能与锂生成荧光络合物, 检测限度为 50—450ppb; 1,4—二氨基蒽醌在硫酸介质中, 与钙离子形成 1 : 2 荧光络合物, 检测灵敏度为 150—400ppb。

利用蒽醌的氧化产物也具有特征荧光这一特性, 建立了某些具有氧化作用的高价金属离子的荧光分析方法。如五价钒和四价铈的检测。在 0.5M 盐酸介质中, 五价钒能氧化 1—羟基—4—氨基蒽醌而生成荧光产物, 可作荧光检测, 灵敏度为 50ppb。 $\lambda_{ex}480nm$, $\lambda_{em}573nm$ 。五价钒和四价铈能氧化 1,5—二羟基—4,8—二氨基蒽醌—2,6—二磺酸钠, 由此建立的荧光分析法的灵敏度分别为 40ppb 和 20ppb。

三、羟基喹啉类

这类荧光试剂中, 8—羟基喹啉和 8—羟基喹啉—5—磺酸、是使用较早的荧光试剂, 它们能和许多金属离子生成荧光络合物, 但选择性不好, 灵敏度也不高。近年来, 利用高配位络合物的形成和胶束增敏的原理, 在体系中加入表面活性剂, 使分析方法的灵敏度、选择性和实验条件均大为改善。

例如: 8—基喹啉—5—磺酸—氯化十四烷基二甲基苄基铵 (Zeph) 体系可检测 0—20ppm 锌。如用氯化正三辛基甲铵代替 Zeph, 灵敏度大大提高, 可检测 0.3ppb 的锌。2 倍量的钴、镉、锰和铁离子不干扰。这一体系在 PH6.3 和 8.3 时, 还可分别测定 10ppb 铝和 100ppb 镉。

8—羟基喹啉—5—磺酸—溴化十六烷基三甲铵体系测定铝、铈、镧、钇的荧光分析法, 灵敏度比相应的二元络合物提高几倍到几十倍。

铈 (III) — 5, 7—二硝基—8—羟基喹啉—罗丹明 B, 可

检测ppb的钪。

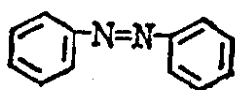
2, 2'-甲亚氨基双-(8-羟基喹啉)能与钇形成选择性很高的荧光络合物, 可检测稀土中50ppb的钇。

5, 7-二氯代-8-羟基喹啉与钇、铈、铝和镓形成的荧光络合物, 可萃取入氯仿。利用它们形成络合物的速度不同来进行测定。

金属离子-8-羟基喹啉-5-磺酸-S₂O₈²⁻是一个很有特点的催化荧光分析体系, 可检测0.4ppb铝, 6ppb银及微量铈。

四、偶氮类试剂

用于荧光分析的偶氮试剂, 其基本结构为

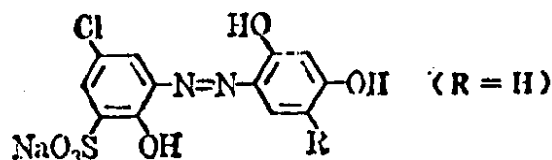


在这类试剂中, 最具有代表性的试剂有:

2, 2'-二羟基偶氮苯, 是铝的灵敏荧光试剂。以罗丹明B作稳定剂, 可检测0.5ppb铝。

2, 2'-二羟基-4, 4'-二甲基偶氮苯, 在二氧六环-乙醇介质中则是镓的荧光试剂。以罗丹明B作稳定剂, 可检测15ppb的镓。

荧光镓试剂, 是一个广泛的荧光络合试剂, 其结构为:



主要用于镓的荧光分析, 其检测灵敏度较高。荧光镓还可以与

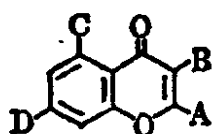
铝、镓、铟生成荧光络合物。如加入某些表面活性剂，可使方法灵敏度提高一个数量级，能检测0.05ppb铝，1 ppb镓和4 ppb铟。

PAN、PAR体系，也是偶氮类荧光试剂的一种类型。

4—〔4—(3—胂酸基—5—氯—2—羟基苯—偶氮)—3—羟基—5—甲基—甲基吡唑基〕苯磺酸是近年来新合成的荧光试剂，对镁的检测具有高选择性。在PH9.5—11.5时，灵敏度为1—5 ppb镁。

五、苯并吡喃酮类

这类荧光试剂的基本结构为：



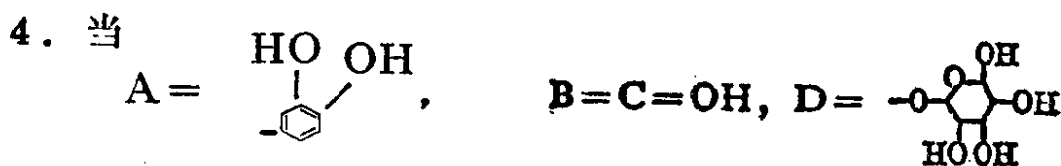
在荧光分析中，早期使用的桑色素，栝精，就是它的多羟基衍生物。而黄酮类，也是它的 α 位苯取代衍生物。因此，它是一类很有价值的荧光试剂。

在上述结构中，各种取代基的衍生物很多具有实用意义。

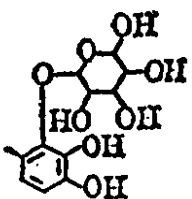
1. 当A=CH₃，B=C₂H₅，C=OH时，是钛的荧光试剂，检测灵敏度为50ppb。

2. 当B=OH时，是硒(IV)和铈的荧光试剂。

3. 当A=苯基，B=D=OH时，是铈(V)和锡(IV)的灵敏荧光试剂。检测灵敏度为0.8ppb锡。



时，是铈(IV)的荧光试剂。

5. 当 A =  , B=C=D=OH 时, 是铈

(III) 和铈 (IV) 的荧光试剂。

6. 当 $R = \text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$, B=OH, C=D=OCH₃ 时, 是

铝、铈、铈、铈的荧光试剂。检测灵敏度为 3 ppb 铈, 0.7 ppb 铈, 8 ppb 铈、0.4 ppb 铝。

多羟基黄酮体系在加入表面活性剂后, 能产生强烈的增感作用, 选择性也有提高。如铈 (IV) — 桑色素 — N — 4 — 氯苯基苯氧脲酸三元络合物体系测定铈时, 铈的干扰就很小。

多羟基荧光酮还是一个催化荧光分析试剂, 如铈 — 过氧化氢 — 水杨基荧光酮体系, 可检测 0.01 ppb 的铈。

六、β—二酮类试剂

这类试剂是镧系元素的重要荧光试剂。例如:

在 Triton X—100 存在下, 铈 (III)、钐 (III) — 噻吩甲酰三氟丙酮 — 三辛基氧化膦 (TOPO) 体系在水相中可以分别检测 1.5 ppb 铈和 15 ppb 钐。如在乙烷溶液中, 其检测灵敏度为 0.02 ppb 铈和 2 ppb 钐。

铈 (III) 与乙酰丙酮 (AA) 形成 2 : 3 多核荧光络合物, 检测灵敏度为 4 ppb。形成铈 (III) — AA — EDTA 三元荧光络合物时灵敏度反而降低。如果应用铈 — 试钛灵 — EDTA 体系, 则灵敏度提高, 检测灵敏度为 0.008 ppb 的铈。

苯甲酰三氟丙酮是铈的高灵敏荧光试剂。铈 (III) — NTA — TOPO 三元体系可检测半导体中的微量铈。

在非离子型表面活性剂十二烷基代九缩乙二醇存在下，铽(Ⅲ)，镨(Ⅲ)，钐(Ⅲ)—三甲基乙酰丙酮—TOPO体系也已用于荧光分析。

七、大环化合物

这是近年来发展起来的一类灵敏度高，选择性也高的新荧光试剂。它们的应用实例有：

利用 μ -原卟啉IV二甲酯—镁、锌、亚锡络合物加热活化后缓发荧光，可检测0.2纳克镁，0.08纳克锌和0.01纳克锡。

5, 10, 15, 20—四(1—甲基—4—吡啶鎓基)卟吩可检测血清中低于78ppb的镁。

利用铜对5, 10, 15, 20—四苯基卟吩硫酸盐的荧光熄灭作用，可检测6ppb的铜。

利用加热活化锌—四苯基卟吩三磺酸络合物缓发荧光，可检测1—162ppb的锌。

冠醚可作碱金属和碱土金属离子的荧光检测。如对钾离子的荧光检测体系有：钾—18—冠—6—曙红体系，钾二苯并—18—冠—6—苯氨基萘磺酸盐体系，钾—大环冠醚—苯氨基萘磺酸—二氟乙烷体系，N—(4—甲基噻酮基—8—甲基)—偶氮—18—冠—6—钾体系等。

N—(4—甲基噻酮基—8—甲基)—偶氮—15—冠—5—锂体系，N—(4—甲基噻酮基—8—甲基)偶氮—18—冠—6—钙体系，可检测ppb级锂和钙。

八、其它类试剂

其它类荧光试剂主要有：

1. 碱性染料体系。如染料—卤离子—金属离子的三元络合物体系，主要有：金属离子—卤离子—罗丹明染料体系，六氯化铼

离子—吖啶橙—二氯乙烷体系，三溴化钡离子—吖啶橙—乙酸异戊酯体系，四氯化金离子—吖啶橙—丙酮体系，二卤化银离子—藏酚红T体系，四卤化金离子—藏酚红T体系，二价金属离子—二溴荧光素—1, 10—二氮菲体系等，这在本书最后一部分《三元络合物在荧光分析中的应用》中较详细地加以介绍。

2. 萘的衍生物。如3—羟基—2—萘甲酸用于钪、铍和镁的荧光分析；2, 3—二氨基萘用于硒(IV)的荧光分析等。

3. 二氮菲型化合物。其中2—(4—甲基—2—吡啶)—5(6)—苯基苯并咪唑是锌的较好荧光试剂。

4. 多芳环正离子。这类试剂结构的特点是多芳基都由富电子的杂原子如氮、氧、磷相连，可以促进体系内的电子流动，降低激发态与基态的能量差，提高荧光效率。这类试剂与金属卤化物的络阴离子形成的离子缔合物具有很高的荧光活性。例如：2, 4, 6—三苯基噁英鎓，2—(4—甲氧基苯)—5, 7—二苯基—4H⁺—1, 3, 4—噻重氮〔3, 2— α 〕吡啶鎓与四氯化铊离子缔合，是铊的荧光分析体系。2—苯基苯并〔8, 9〕噻嗪并〔4, 5, 6, 7—fed〕菲啶鎓在0.5M盐酸介质中，与四氯化金离子形成1:1离子缔合物，萃取入乙酸异戊酯中，可检测8 ppb的金。硫氰酸钴离子可以熄灭2,4—二氯苯基三苯基磷鎓的强荧光，可用于荧光熄灭法测定钢中的钴。

参考文献：

1. 有机荧光试剂的进展

方瑞斌 徐其亨 《化学试剂》8(5), 1986

第三章 金属离子的荧光分析法

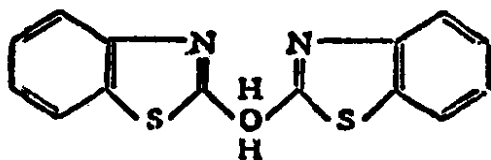
无机化合物的荧光分析法很多，现将它们分成金属离子、稀土元素及铀钍、常见的非金属离子三章加以介绍。其中金属离子的分析方法，基本按周期表顺序排列，但考虑到有的常见金属离子分析方法及应用实例较多，所以，少数金属离子也单独成一节来介绍。

第一节 锂、钠、钾、铷、铯的荧光分析

一、概述

锂、钠、钾、铷、铯属碱金属，它们的荧光分析方法很少，就文献报导只有几种。以锂为例，所报道的几种荧光分析法，都属于锂与有机配位体络合，生成在紫外光照射下会产生荧光的络合物。

例如，二苯并噻唑甲烷



它与锂离子在二噻烷介质中所生成的化合物，在紫外光照射下会发生亮蓝色荧光。

8-羟基喹啉，5,7-二溴-8-羟基喹啉也能与锂络合生成荧光产物，检测灵敏度可至微克数量级。其它试剂，如桑色

素，1-氨基-4-羟基蒽醌槲皮素以及硝酸铀酰等，也能与Li⁺离子形成荧光络合物，但灵敏度均不高。

锂的常用的三种分析方法检测灵敏度为：

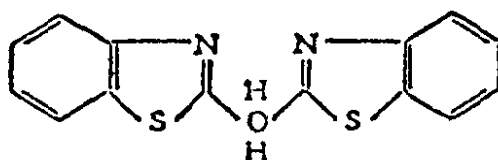
试剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
二苯并噻唑甲烷	荧光络合物	0.005
8-羟基喹啉	荧光络合物	0.5
5,7-二溴-8-羟基喹啉	荧光络合物	1.0

二、分析方法

(一) 锂的荧光分析。

1. 二苯并噻唑甲烷法⁽¹⁾。

试剂结构：



它与锂离子在二噁烷介质中所生成的化合物，在紫外光照射下会发生亮蓝色荧光。

试剂：

0.002%二苯并噻唑甲烷的二噁烷溶液。用前现配。

操作方法：

在PH=7的样品溶液(含0.05—4微克锂)中，加入10微升2N氢氧化钾和3毫升试剂，用二噁烷稀释至10毫升，然后在15分钟内作荧光读数。 $\lambda_{ex}365nm$ ， $\lambda_{em}415nm$ 。配制本底溶液，在同样时间内读数，到作参照。

此法测定范围为0.005—2微克锂/毫升。

注意事项：

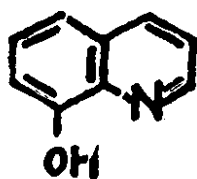
水的存在会使荧光强度下降，但却使荧光的稳定性显著提高，适宜的含水量为20%。

氢氧化钾的用量要控制，太少了荧光强度低，太多了荧光稳定性差，一般采用0.02毫克分子氢氧化钾/10毫升分析溶液。

锌(II)离子对此法有干扰。

2. 8-羟基喹啉法⁽²⁾。

试剂结构：



在弱碱性的乙醇溶液中，锂离子与试剂形成络合物，在紫外光照射下发生强绿色荧光。

试剂：

配制一种试剂，使它含0.1% 8-羟基喹啉，0.12% 氢氧化钾和0.08% 醋酸钠。

操作方法：

将样品溶液（含锂量不超过20微克），用0.4%氢氧化钠溶液中和（用刚果红作指示剂），然后加一滴过量。加入0.5毫升试剂，用乙醇稀释至25毫升。用5毫升氯仿萃取，将萃取液作荧光读数。 $\lambda_{ex}365nm$ ， $\lambda_{em}540nm$ 。

此法测定范围为0.5—2.4微克锂/毫升。

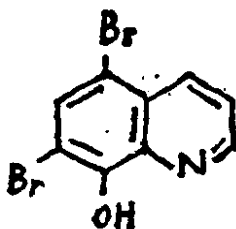
注意事项：

溶液中如有水存在，荧光强度将显著降低，因此，所有器皿均须烘干，并在使用前用乙醇漂洗。

镁和锌离子对本法有严重干扰，但可用加入NaF来加以掩蔽。

3. 5,7-二溴-8-羟基喹啉法⁽³⁾。

试剂结构:



锂离子与试剂在弱碱性的乙醇溶液中, 形成络合物, 在紫外光照射下会发生绿色荧光。

试剂:

$2 \times 10^{-3} \text{M}$ 试剂乙醇溶液。

操作方法:

移取0.1毫升试样溶液于烘干过的试管中, 加入1毫升试剂和0.05毫升5 N氨水, 用乙醇稀释至4毫升, 作荧光读数。荧光峰530nm。

此法测定范围为1—100微克锂/毫升。

注意事项:

钙、锶、钡、镁、铝等离子与该试剂的反应物也会发生荧光, 其容许量为1微克。其它碱金属离子的容许量为1.5毫克。铁离子的存在将使荧光强度减弱, 10微克铁离子的存在将使荧光强度下降40—60%。

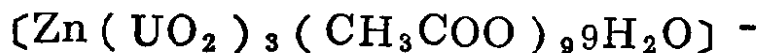
4. 其它方法(4—8)。

锂离子与桑色素, 1-氨基-4-羟基蒽醌, 槲皮素, 硝酸铀酰等有机试剂形成荧光络合物, 但灵敏度均不很高。

(二) 钠的荧光分析。

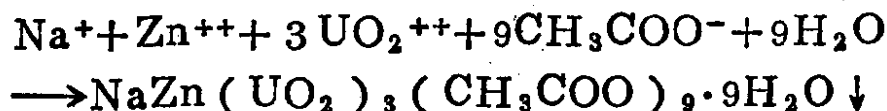
1. 醋酸铀酰锌法⁽⁹⁾。

试剂结构:



在醋酸或中性溶液中, 试剂会把钠沉淀为黄色 $\text{NaZn}(\text{UO}_2)_3 \cdot (\text{CH}_3\text{COO})_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 晶体, 在紫外光照射下会发生黄绿色荧光。

其反应式如下：



试剂：

20%醋酸铀酰锌水溶液用下法配制：

a. 加热使10克醋酸铀酰溶于6克30%醋酸中，用水稀释至50毫升。

b. 加热使30克醋酸锌溶于3克30%醋酸中，用水稀释至50毫升。

趁热将a、b两液混合，可得澄清溶液，并在此溶液中加入氯化钠一小粒，以诱导沉淀除去试剂中杂有的钠离子，放置24小时后，过滤除去醋酸铀酰锌钠的沉淀即成。临用时以等体积酒精稀释。

操作方法：

将试液滴在滤纸上，凉干后均匀喷洒一层试剂，在紫外光照射下会发黄绿色荧光。

此法检出限量为2.5微克钠。

注意事项：

钾、钙、镁、铍离子在大量时，亦能与试剂生成和钠盐类似的荧光性沉淀。

2. 8-羟基喹啉法⁽¹⁰⁾。

钠与试剂生成络合物，在紫外光照射下会发荧光。

试剂：

溶解0.5克8-羟基喹啉于60毫升乙醇中，用水稀释至100毫升。或将5克8-羟基喹啉和1克曲酸溶于1升60%乙醇中。

操作方法：

试样溶液经过纸上色层分离后，取用上述两种试剂中的任何一种喷洒，并置于氨气上熏，然后在紫外光下观察荧光斑点。

此法灵敏度约为5微克。

(三) 钾的荧光分析法。

1. 醋酸铀酰锌法⁽¹¹⁾。

原理及操作手续同钠。检测灵敏度1.0ppm。

2. 8-羟基喹啉法⁽¹²⁾。

原理及操作手续同钠。检测灵敏度1.0ppm。

3. 槲皮素法⁽¹³⁾。

试剂与钾形成荧光络合物。

试剂：

0.2%槲皮素的乙醇溶液。

操作手续：

试液经层析分离后，喷洒试剂溶液，在紫外光下观察荧光斑点。

此法灵敏度约5微克。

(四) 铷的荧光分析法。

8-羟基喹啉法⁽¹⁴⁾。

试剂与铷能形成荧光络合物，但此法不实用。

(五) 铯的荧光分析。

8-羟基喹啉法⁽¹⁵⁾。

铯与试剂能形成荧光络合物而用于荧光检测。铊和其它第I族元素都能与试剂生成亮绿色荧光。此法灵敏度为0.1ppm。

参考文献：

1. A. Pitts and D. Ryan, Anal. Chim. Acta, 37, 460 (1967).
2. C. E. White, M. H. Fletcher and J. Parks, Anal. Chem., 23, 478 (1951).
3. Н. С. Полуэкто́в, С. Б. Мещкова, Е. В. Ме

- Лентева, Журналхим, 1970, 25, 1314.
4. E. B. Sandell, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 12, 674 (1940); *ibid.* 12, 762 (1940).
 5. C. E. White, C. S. Lowe, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 13, 809 (1941).
 6. J. Michal, Chem. Listy, 50, 77 (1956).
 7. J. Michal, Coll. Czech. Chem. Comm., 21, 576 (1956).
 8. H. Goto, Sci. Rept. Tohoku Imp. Univ. ser., 1, 29, 287 (1940).
 9. F. Feigl, Spot Tests in Inorganic Analysis. (tr. by R. E. Oesper), 5th ed., Elsevier, Amsterdam, 1958.
 10. F. Pollard, J. Meomie, and J. Elberh, J. Chem. Soc., 466 (1951); *ibid.*, 470 (1951).
 11. H. Goto, Chem. zb • 1, 1068 (1941).
 12. C. Miller and R. Magee, J. Chem. Soc., 3183 (1951); F. Pollard J. Meomie and J. Elberh, J. Chem. Soc., 466 (1951); H. Block, Paper Chromatography, 1955.
 13. 陈国珍《荧光分析法》, 120 (1975).
 14. M. Haitinger, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, Wien, Leipzig, 1937.
 15. F. Pollard, J. Mcomie and J. Elberh, J. Chem. Soc., 466 (1951); *ibid.*, 470 (1951).

第二节 铜、银、金的荧光分析

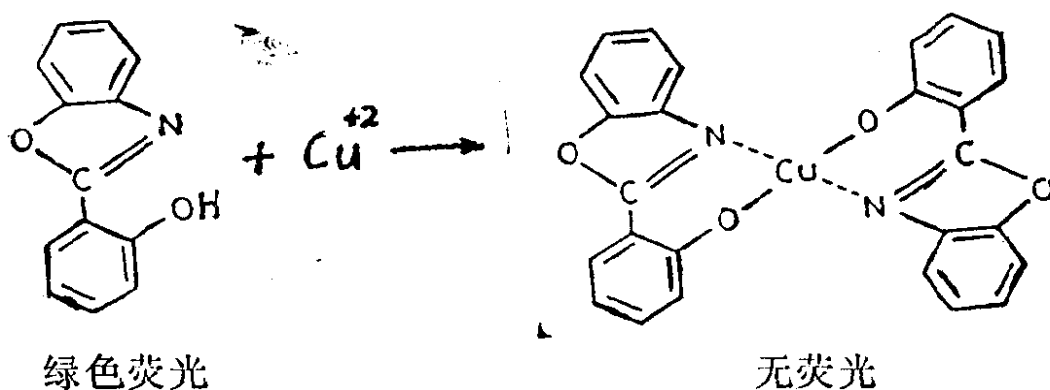
一、铜的荧光分析

(一) 概述。

铜的荧光分析法，有荧光熄灭法，催化荧光法和生成荧光络合物三种类型。

1. 荧光熄灭法。

铜离子能与某些发荧光的有机配位体络合，生成无荧光的络合物，检测有机配位体荧光的减弱程度，可以检测铜离子的含量。例如：试剂2—(2'-羟基苯基)苯并噻唑具有绿色荧光，它与铜离子络合生成无荧光的络合物。



属于这类方法的还有 ϵ -ADP法。

2. 催化荧光法。

有些有机配位本身并无荧光，铜离子的存在，能催化其缩合或氧化反应，使其生成在紫外线下能发生荧光的化合物。例如，荧光铜铁灵本身并无荧光，但在碱性溶液中能被铜离子催化发生缩合反应，生成的二聚物在紫外光照射下会发生亮绿色荧光。

水杨基荧光酮本身有强的荧光，过氧化氢会使荧光熄灭，但反应速度慢，铜离子能催化此反应，从而熄灭试剂的荧光。

属于这一类型的反应，还有2,2'-联吡啶酮肟法，1-(2-羟丙基)新烟碱法等。

3. 生成荧光络合物或三元络合物法。

铜离子能与有机配位体络合，生成能在紫外光下发荧光的化合物。例如，铜离子与硫胺素络合，反应产物在紫外光照射下发红色荧光。

属于这类反应的有1,1,3-三氰基-2-氨基-1-丙烯法、水杨胂法、安息香法、1,3-苯二羧酸法等。

铜离子还能以三元络合物的形式而用以荧光检测。如将铜离子用盐酸羟胺还原为亚铜离子后，与孟加拉玫红和1,10-菲绕啉反应生成三元络合物而用于荧光测定。属于这类反应的还有四氯四碘荧光素和1,10-菲绕啉法等。

铜的荧光分析法，除催化荧光法外，检测灵敏度均不太高。近年来，人们都在寻找新的试剂，使铜的荧光分析法能得到普遍的应用。

铜的各种荧光分析法检测灵敏度如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
2-(2'-羟苯基)苯并噻唑	荧光熄灭	0.1
荧光铜铁灵	催化	0.1
孟加拉玫红+1,10-菲绕啉	三元络合物	0.1
硫胺素	荧光络合物	0.1
1,1,3-三氰基-2-氨基-1-丙烯	荧光络合物	0.1
1,10-菲绕啉十四氯四碘荧光素	三元络合物	0.05
水杨胂	荧光络合物	0.05

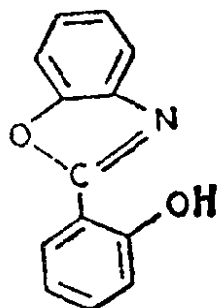
续 表

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
安息香	荧光络合物	2.0
1-(2-羟丙基)新烟碱	催化	0.05
1,3-苯二羧酸	荧光络合物	0.002
2,2'-联吡啶酮肟	催化	0.001
胭脂虫红	催化	0.002
初叶啉	荧光络合物	0.005
ε-ADP	荧光熄灭	0.1
水杨基荧光酮+过氧化氢	催化	0.1
2-氨基-1-丙烯	荧光络合物	0.01
苯甲酰胺基(对-二甲基苄叉)乙酸	荧光络合物	0.0002
2,9-二甲基-4,7-二苯基-1,10-菲绕啉	荧光络合物	0.01

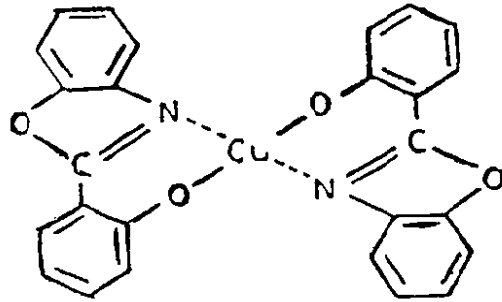
(二) 分析方法。

1. 2-(2'-羟苯基)苯并噻唑法⁽¹⁾。

试剂结构:



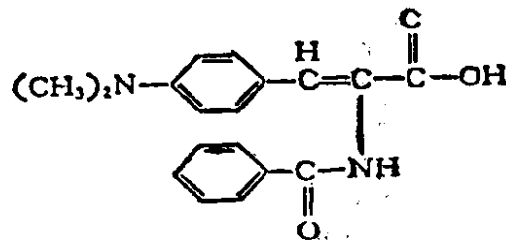
试剂具有绿色荧光，它与铜络合生成无荧光络合物，结构式如下：



用0.01%试剂丙酮溶液滴定，可检测0.1PPm。试剂过量，荧光强度再次增强。

2. 荧光铜铁灵法⁽²⁾。

试剂结构：



在弱碱性溶液中，试剂在紫外光照射下并不发生荧光，但在微量铜的催化下，该试剂发生缩合反应所生成的二聚物，在紫外光照射下含发生亮绿色荧光。在给定的时间内，二聚物产量与铜离子浓度成正比。

操作手续：

在5毫升含有0.3微克铜的样品溶液中，加入20mM试剂(试剂溶于PH=10的0.02M醋酸铵缓冲溶液中)，在100℃加热10分钟，然后冷却，读数。荧光峰520nm。

人体皮肤中铜的测定：样品加5毫升硫酸、10毫升过氯酸和15毫升硝酸，一起加热成无色溶液，通常需1—1.5小时，蒸发至干，移入40毫升热水中，冷却，调节PH至7-8，取此溶液2.5毫升整，稀至4.5毫升并加入0.5毫升PH=0的醋酸铵缓冲溶液，加入0.2毫升0.015%荧光铜铁灵的丙酮溶液。约15分钟后，加入

0.2毫升1mM EDTA, 记录, $\lambda_{ex}400nm$, $\lambda_{em}680nm$ 。

四氯化硅中铜的测定: 将50毫升样品与四氯化碳一起加热蒸发, 蒸去由样品溶液中加入HF而形成的少量二氧化硅。与0.5毫升盐酸一起蒸发至干。配制试剂: 将10毫升PH=0的缓冲液与3毫升0.03%荧光铜铁灵丙酮溶液及87毫升水, 混匀。将此试剂5毫升加至残留物中并在100℃加热15分钟, 冷却, 用汞灯激发, 记录荧光。

3. 孟加拉玫红、菲绕啉法⁽³⁾。

用盐酸羟胺将 Cu^{+2} 还原成 Cu^{+} , 然后与孟加拉玫红(C.I. Acid Red 94)和菲绕啉反应生成三元络合物而用以荧光检测。

试剂的配制:

在硝酸钠溶液中, 加入试剂, 配成0.1M。在含有30%柠檬酸钠和1%盐酸羟胺的EDTA溶液中加入试剂, 配成0.01M。

操作手续:

在含有0.02—0.06毫克铜的样品中, 加入10毫升试剂, 再加入0.1%新亚铜因溶液并稀释至25毫升。用25毫升氯仿萃取1分钟。在10毫升氯仿层中, 加入10毫升含有0.1mM孟加拉玫红和mM菲绕啉的溶液, 再加入2毫升20%磷酸氢二钠和10毫升水。摇荡, 30分钟后分离, 作荧光读数。 $\lambda_{ex}560nm$, $\lambda_{em}570nm$ 。

此法灵敏度为0.1—0.6微克, 误差达6%左右。

4. 硫胺素法⁽⁴⁾。

试剂与铜络合, 反应产物在紫外光照射下发红色荧光。

操作手续:

在5毫升样品中, 加入10毫升硫酸羟胺, 然后滴加20%氢氧化钠溶液至PH=7。在水中冷却, 加入2毫升0.005%硫胺素溶液, 再调节PH至11—11.5, 并在冰中冷却。静置10分钟后用5毫升戊醇(内含30微克丁基羟基甲苯)萃取1分钟。用 Na_2SO_4 干

干燥萃取物，作荧光读数。 $\lambda_{ex}290nm$ ， $\lambda_{em}650nm$ 。

此法可检测至低于0.1微克/毫升。

注意事项：

在PH为6—8和低温下荧光最强。

铜和亚铜离子都反应，但亚铜离子不灵敏。

标准溶液使用2.5mM罗丹明B溶液。

5. 1,1,3—三氰基—2—氨基—1—丙烯法⁽⁵⁾。

在PH7.8—8.4时，铜离子能与试剂生成黄色荧光团。

操作方法：

将组织样品灰化，加入少量水，用氢氧化钠溶液调节PH=8.5，稀释至一定体积使铜含量约为0.1—0.5微克/毫升。将0.3毫升1mM试剂与0.5毫升2mM咪唑溶液混合，并加入1毫升样品溶液，在37—40℃温热15分钟，加入6毫升水和1滴1:2盐酸，作荧光读数。荧光峰365nm。

此法能用于检测动物组织和人尿中的铜。灵敏度为0.1—0.5ppm。

6. 1,10—菲绕啉和四氯四碘荧光素法⁽⁶⁾。

同方法3。

加入四溴一，四碘一，或二氯四碘荧光素，亦能形成三元络合物而用于荧光测定。调节PH=9，用1:1氯仿—丙铜萃取。 $\lambda_{ex}540nm$ ， $\lambda_{em}580nm$ 。灵敏度为0.05—10 μg /10ml。许多阳离子有干扰。

7. 水杨胼法⁽⁷⁾。

在PH=12，铜与试剂络合产生亮蓝色荧光。在铜的含量为0.05—1.0ppm时，荧光强度正比于铜的含量。许多离子不干扰，只有Fe，Ni和Mn有干扰。

8. 安息香法⁽⁸⁾。

在氨的乙醇溶液中，试剂与铜离子反应所生成的络合物，在阳

光照射下会发生蓝色荧光。 $\lambda_{ex}430\text{nm}$, $\lambda_{em}460\text{nm}$ 。

方法灵敏度约为 2 ppm。

9. 1—(2—羟丙基)新烟碱法⁽⁹⁾。

试剂与过氧化氢的反应产物，在紫外光照射下产生绿色荧光，荧光峰525nm。在铜离子存在下，荧光峰向较短的波长迁移且荧光强度减弱。利用此法可荧光检测铜，灵敏度为0.05—5.0 ppm。 UO_2^{2+} 和 Pd^{2+} 有干扰。

最佳反应条件：PH为10—11硼酸盐缓冲溶液，试剂浓度 3 mM，过氧化氢2.5mM，反应时间10分钟。

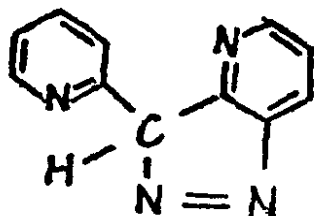
10. 1,3—苯二羧酸法⁽¹⁰⁾。

在醋酸缓冲溶液中及在盐酸羟胺存在下，试剂与铜离子反应的生成物，在紫外光照射下会发生蓝色荧光。此法可用于铜的定性分析，可检出20ppb的铜。

11. 2,2'—联吡啶酮脘 (DPKH) 法⁽¹¹⁾。

在酸性溶液中，铜离子能催化DPKH的自动氧化，生成氧化物，产生强蓝色荧光。

试剂结构：



操作手续：

在25毫升容量瓶中，加入2毫升 $3.2 \times 10^{-5}\text{M}$ DKPH水溶液，再加入一定体积的铜离子溶液，使在溶液中阳离子浓度在0.4—1 ppb之间。溶液混合90分钟后，加入10毫升0.7M盐酸溶液，用去离子水将混合液稀释至刻度，在15分钟内测量。 $\lambda_{ex}349\text{nm}$, $\lambda_{em}435\text{nm}$ 。在盐酸加入前，对所有样品的PH应相同（约在6—8之间）。

此法可检测0.4—1 ppb铜。

12. 胭脂虫红法⁽¹²⁾。

在碱性溶液中，铜可使试剂的荧光颜色从红色变成蓝白色。由此建立铜的荧光分析，灵敏度可达2 ppm，铂、钨和金有干扰。

13. 初卟啉法⁽¹³⁾。

试剂与铜离子能生成络合物，在液态氮存在下具有灵敏的荧光峰，曾被用于测定微量铜，灵敏度可达0.5ppb。

14. ϵ -ADP (Adenosine Phosphates) 法⁽¹⁴⁾。

铜离子能与试剂形成络合物，从而熄灭试剂的荧光。由此建立一种简单而灵敏的测定铜的方法。

操作手续：

将1毫升试剂溶液(0.01mM ϵ -ADP在10mMPH=7.2的HEPES缓冲剂中)，加入20微升含有0.1—0.6 μ g铜离子的中性样品溶液，直接测量荧光熄灭。 λ_{ex} 315nm, λ_{em} 405nm。

此法也能检测钴，亚铁及高浓度的铁离子。

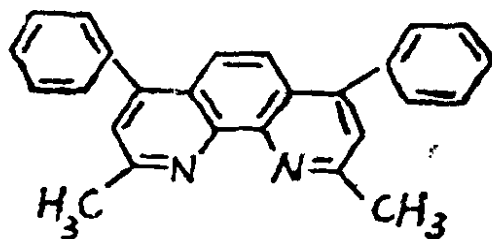
15. 水杨基荧光酮和过氧化氢法⁽¹⁵⁾。

水杨基荧光酮有强的荧光，过氧化氢会使荧光熄灭，但反应速度慢。铜离子能催化此反应，从而熄灭试剂的荧光。

见钴的测定。

16. 其它方法。

铜的荧光分析法，还曾报导过2-氨基-1-丙烯法⁽¹⁶⁾，此法灵敏度为0.01微克/毫升。苯甲酰胺基(对-二甲基苄叉)乙酸法⁽¹⁷⁾，此法灵敏度为0.0002微克/毫升。2,9-二甲基-4,7-二苯基-1,10-菲绕啉法⁽¹⁸⁾，方法灵敏度为0.01微克/毫升。试剂结构为：



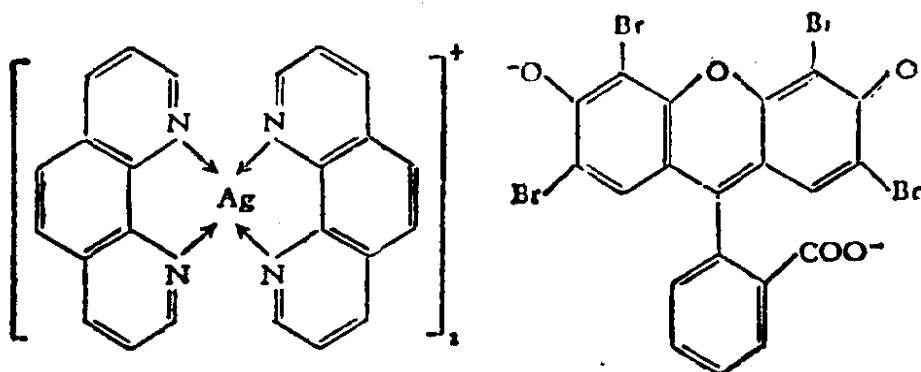
二、银的荧光分析

(一) 概述.

银的荧光分析法，主要是荧光熄灭法。

银离子，在合适的溶液中，能熄灭一些试剂的荧光。因此，检测试剂的荧光强度的减弱，可以测定溶液中银离子的含量。如在中性或稀盐酸溶液中，银离子会使硫酰的荧光熄灭。在水溶液中，银离子会使2,3-萘三氮杂茂的紫色荧光熄灭。

银的荧光熄灭法还可通过生成三元络合物的方法进行。例如，曙红在紫外光照射下会发生荧光，其激发峰在300nm，荧光在545nm。在 Ag^+ 离子存在时，它将与曙红-非绕啉溶液生成三元络合物：



从而引起荧光熄灭。由荧光强度降低的程度，可以测定银离子的含量。

银离子被氧化后，能与8-羟基喹啉-5-磺酸生成荧光络合物而用于荧光检测。能与银离子生成荧光络合物的试剂还有丁基罗丹明S和试卤灵。

银的荧光分析法还有点滴法，催化化学发光法及荧光滴定法等，但这些方法的灵敏度都不太高。

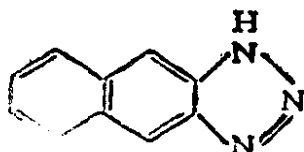
常用的荧光分析法列表如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
丁基罗丹明S	螯合	0.01
曙红+1.10-菲绕啉	荧光熄灭	0.004
8-羟基喹啉-5-磺酸	螯合	0.013
Lucigenin+过氧化氢	催化	0.08
2.3-萘三氮杂茂	荧光熄灭	0.1
试卤灵	螯合	0.01
3,4,5,6-四氯荧光素+菲绕啉	三元络合物	0.5
丁基罗丹明B+溴离子	三元络合物	0.6
罗丹明6G+溴离子	三元络合物	0.5
孟加拉玫红+菲绕啉	三元络合物	0.3

(二) 分析方法。

1. 2,3-萘三氮杂茂法⁽¹⁹⁾。

试剂结构：



它由萘-2,3-二胺在醋酸中重氮化而制得，然后将产品重结晶。

试剂的水溶液在紫外光照射下会发生强烈的紫色荧光， Ag^+ 能熄灭试剂的荧光。

试剂配制：

a. 在0.025%氢氧化钠溶液中，每毫升溶解试剂1毫克。

b. 缓冲溶液：在0.6%己胺溶液中，加入20% 氢氧化钠溶液，直至PH=10.5。

操作方法：

在含有1—3 ppm银的25毫升样品溶液中，加入5毫升试剂a溶液，10毫升水和10毫升缓冲溶液b，然后作荧光读数。 λ_{ex} 362nm, λ_{em} 406nm。

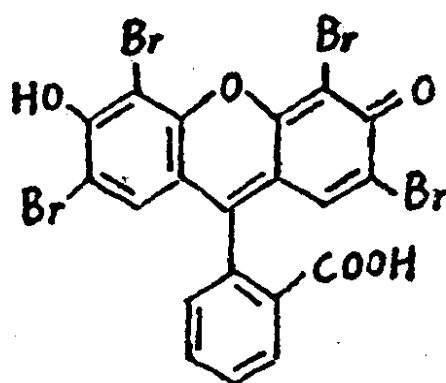
此法的测定范围为0.025—0.1微克银/毫升。

注意事项：

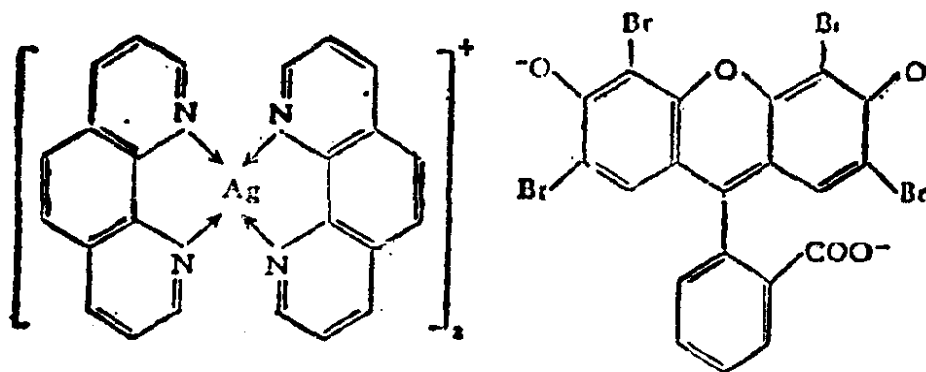
许多元素有干扰。

2. 曙红、菲绕啉法⁽²⁰⁾。

曙红又名2,4,5,7—四溴荧光素，其结构为：



在PH 4—8 的水中，它与菲绕啉和银生成三元络合物，因而引起荧光熄灭，由荧光强度降低的程度，可以测定银离子的含量。



操作手续：

往试样溶液中加入2.0毫升 10^{-2} M EDTA溶液，2毫升 10^{-3} M 菲绕啉溶液，1.0毫升2%醋酸铵溶液和1.0毫升 1.25×10^{-4} M 曙红溶液，用水稀释至25毫升，作荧光读数。 $\lambda_{ex} 300\text{nm}$ ， $\lambda_{em} 545\text{nm}$ 。

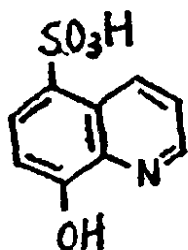
此法的测定范围为4—40ppb。

银离子与曙红—1,10—菲绕啉所生成的三元络合物的水溶液，在紫外光照射下虽不发生荧光，但它的氯仿—丙酮萃取液在阳光照射下却会发生明亮的黄绿色荧光，其荧光峰为580nm。萃取时PH=6，氯仿：丙酮为7：3，方法的灵敏度为0.08微克银/毫升。

在EDTA存在下，仅钴，铁，铟离子有干扰。

3. 8—羟基喹啉—5—磺酸法⁽²¹⁾。

试剂结构：



银离子被过硫酸钾氧化成三价状态，然后与试剂反应生成荧光产物。

操作手续：

将含有0.1—10微克的样品溶液与过量的 10^{-2} — 25 M试剂混合，调节PH为1.5—3.5，加入5毫升0.1M过硫酸钾，用水稀释至10毫升。60—90分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex} 375\text{nm}$ ， $\lambda_{em} 485\text{nm}$ ，用试剂本底作对照。

在0.0125—5微克银/毫升的浓度范围内，荧光强度与银含量呈线性关系。大部分离子对此法并不干扰，铜、汞、钡的存

在会使荧光熄灭，而镉、铅的存在会使荧光增强。

4. 菲绕啉和3,4,5,6—四氯荧光素法⁽²²⁾。

银与试剂形成稳定的1 : 2 : 1 橙红色三元络合物，可用于荧光检测。

操作时，用EDTA作掩蔽剂，在PH10.5—11.8时荧光强度为常数。在荧光读数时，一般可用加入胶来稳定荧光产物。

此法灵敏度为0.5—6 微克银/毫升。

I^- , CN^- , $S_2O_3^{2-}$ 有干扰。

用四碘荧光素代替四氯荧光素，可形成 Ag^+ -四碘荧光素—1,10—菲绕啉三元络合物，用氯仿从PH6 的溶液中萃取，作荧光读数。 $\lambda_{ex}510nm$, $\lambda_{em}570nm$ 。此法灵敏度为0.5—10 $\mu g/ml$ ⁽²³⁾。

5. 丁基罗丹明B、溴离子法⁽²⁴⁾。

试剂与银离子形成 $Ag(I)$ —丁基罗丹明B— Br^- 三元络合物。预先用二苯硫脲分离 Ag^+ ，与试剂反应后，用苯从6N 0.1 $NBr^- + H_2SO_4$ 中萃取，然后作荧光检测。 $\lambda_{ex}565nm$, $\lambda_{em}590nm$ 。

此法灵敏度为0.6—6 $\mu g/6ml$ 。

许多阳离子有干扰。

6. 罗丹明6G、溴离子法⁽²⁵⁾。

同上原理，银离子与试剂形成 $Ag(I)$ —罗丹明6G— Br^- 三元络合物。用苯从4.2 $NH_2SO_4 + 0.17NBr^-$ 中萃取，作荧光读数。激发峰535nm，荧光峰560nm。

此法灵敏度为0.5—10 $\mu g/6ml$ 。

许多阳离子有干扰。

7. 孟加拉玫红、菲绕啉法⁽²⁶⁾。

银离子与试剂形成 $Ag(I)$ —孟加拉玫红—菲绕啉三元络合物，而用于荧光检测。用氯仿从PH6 中萃取。 $\lambda_{ex}535nm$,

$\lambda_{em}580nm$ 。

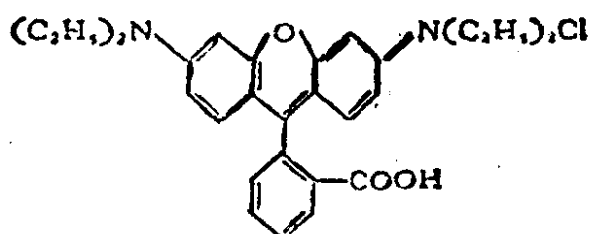
此法灵敏度为 $0.3-3\mu g/6ml$ 。

许多阳离子有干扰。

三、金的荧光分析

(一) 概述。

金的荧光分析主要使用罗丹明染料。如罗丹明B, 结构式为:



它与 $AuCl_4^-$ 离子络合, 生成 $Au(III)-$ 罗丹明B- Cl^- 三元络合物, 在阳光照射下会发生橙黄色荧光。测量三元络合物的荧光, 即能测得金的含量。其它罗丹明染料, 如丁基罗丹明B, 罗丹明6G等, 也能用作金的检测试剂。

金与曲酸, 对一二甲胺基芘叉若丹宁等试剂能生成荧光化合物, 而用于金的荧光分析中。

金的几种荧光分析法检测灵敏度如下表:

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
丁基罗丹明B	荧光络合物	0.1
曲酸	荧光络合物	0.1
罗丹明B	荧光络合物	0.02
罗丹明	荧光络合物	0.1
罗丹明6G	荧光络合物	0.02
对二甲氨基芘叉若丹宁	荧光络合物	0.02
二吡啶基乙二醛双苯胺	荧光络合物	0.5

(二) 分析方法。

1. 丁基罗丹明B法⁽²⁷⁾。

丁基罗丹明B与氯化金络合，生成Au(Ⅲ)—丁基罗丹明B—Cl⁻三元络合物，在阳光照射下会发生红橙色荧光，其吸收峰在565nm，荧光峰590nm。方法灵敏度与用罗丹明B法相同，为0.1微克/毫升。过剩的Cl⁻离子以及铊的存在对此法有严重干扰，须加以消除。

矿中金的测定⁽²⁸⁾：

取含有0.1—1微克的样品，如它是硫酸盐，则在500℃灼烧2小时，用5毫升硝酸和15毫升盐酸加热分解。加入20毫升水，煮沸，过滤和洗涤，滤液用0.5克活性炭搅拌5分钟，经过纸泵过滤并用热水洗。灰化，并在600℃灼烧。残渣与1毫升硝酸、0.25毫升硫酸和50毫克硫粉一起加热，加入5毫升水并过滤，灰化并在600℃灼烧。加入3毫升氯水至残渣中，然后在80℃干燥。再继续加热10分钟，加入现配的9.5毫升12.6N硫酸和0.5毫升0.02%丁基罗丹明B溶液，用6毫升苯萃取。苯层在 $\lambda_{ex}590nm$ ， $\lambda_{em}656nm$ 处读数。如在6毫升苯萃取液中加入1.5毫升丙酮，则荧光读数能至0.05微克金。

铊和铋存在时金的测定⁽²⁸⁾：

用碳吸收来分离金，过滤、灼烧。用1.5毫升王水将残渣煮沸，然后稀至25毫升，用5毫升0.01%双硫脲的苯溶液萃取，用水洗萃取液并蒸发至干，将残渣在600℃灼烧，然后完全按上法“加入3毫升氯水至残渣中……”操作。

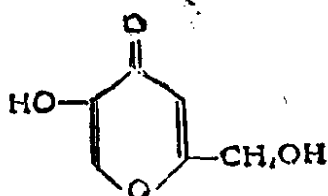
铜中金的测定⁽²⁹⁾：

将含有0.1—1微克金的样品溶在15毫升游离氯的硝酸中，蒸发至5毫升并冷却，加入10毫升1:1硫酸和50毫克硫。蒸发至干，取出放入25毫升水中，过滤含有金的不溶物质，洗涤，并在500℃灼烧。将残渣溶于2毫升王水中并蒸干。用3毫升氯水处

理并在70℃以下蒸干,残渣保温15分钟,冷却,加入9.5毫升12.6N硫酸,0.5毫升0.02%丁基罗丹明B和6毫升苯。离心分出有机层,在其中加入丙酮后读数。 $\lambda_{ex}565\text{nm}$, $\lambda_{em}590\text{nm}$ 。

2. 曲酸法⁽³⁰⁾。

试剂又名5—羟基—2—羟甲基—1,4—对氧芑酮,其结构式为:



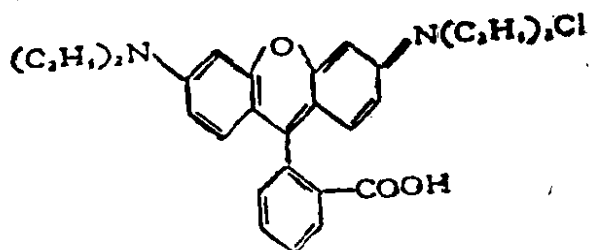
它与金在PH5.6—6.8时反应生成强的绿色荧光。线性浓度范围为0.01—1.0PPm,加入氯化钠可增强荧光强度。

操作方法:

在含有5—50微克金的样品中,加入5毫升20%氯化钠溶液。稀释至50毫升并在暗处放置30分钟。在470nm以上作荧光读数。用0.4微克/毫升的荧光素钠作参照。在PH5.7—6.8时荧光不变,加入氯化钠是为了增强荧光强度。

3. 罗丹明B法⁽³¹⁾。

试剂结构:



它在0.4M盐酸中与 AuCl_4^- 形成络合物,在阳光下会发生橙黄色荧光。激发峰550nm,荧光峰575nm。能检测至低于0.02PPm的金,偏差在 $\pm 0.003\text{PPm}$ 。此法比原子吸收法灵敏度高25倍。

操作手续:

样品溶于3.1N硫酸和0.4N氯化钠溶液中,取10毫升,加入

1 毫升0.1%罗丹明B溶液, 0.5毫升丙酮和6毫升苯, 振荡1分钟, 分出有机物相作荧光读数。 $\lambda_{ex}560\text{nm}$, $\lambda_{em}580\text{nm}$ 。

Sb(v)、Tl(III)、In、Ga对此法有干扰。

4. 罗丹明法⁽³²⁾。

试剂与金形成络合物而用于荧光检测。

操作手续:

含有0.1—1微克金的样品0.5N硝酸溶液10毫升, 与0.5%氯化钠和0.0004%罗丹明溶液一起振荡30秒, 用氯仿萃取。5分钟后进行相分离, 然后将有机物作荧光读数。

5. 罗丹明6G法⁽³³⁾。

试剂与金形成络合物而用于荧光检测。

操作手续:

将1毫升样品溶液, 与1毫升0.01M溴化钾和1毫升0.03%罗丹明6G溶液混合。用0.02N硫酸调节溶液PH=2, 稀释至5毫升, 用5毫升醋酸丁酯萃取溴化金染料络合物和溴离子, 然后作荧光读数。可测至低于0.02微克/毫升。

6. 对二甲氨基芞叉若丹宁法⁽³⁴⁾。

试剂与 AuCl_4^- 所离成的络合物, 在阳光照射下会发生黄绿色荧光。激发峰430nm, 荧光峰580nm。可用氯仿萃取该络合物并进行荧光测量, 方法的测定范围为0.02—0.2微克金/毫升, 许多阳离子对此法有干扰。

7. 二吡啶基乙二醛双苯胺法⁽³⁵⁾。

将试液与2毫升0.174mM试剂的99%乙醇液混合并放置1小时, 然后用5毫升PH1.26的缓冲液并用水释稀至25毫升。放1小时后测荧光强度。 $\lambda_{ex}305\text{nm}$, $\lambda_{em}437\text{nm}$, 方法灵敏度0.5—2 PPM, 误差 $\pm 2.46\%$ 。

参考文献:

1. N. Iritani, T. Miyahara and I. Takahashi, *Japan Analyst*, 17, 1075 (1968).
2. A. V. Konstantinov, L. M. KorobochKim and G. V. Anastasina, *Tr. Novoi Appl. Metod*, 5, 167 (1967).
3. Barbara kaslerka and Jan Dobrowdski, *Chem. Anal. (warsaw)* 16, 619 (1967).
B. W. Bailey, R. N. Dagnall and T. S. west, *Talanta*, 13, 1661 (1966).
4. Y. Yamane, M. Miyazaki and M. ohtawa, *Japan Analyst*, 18, 750 (1969).
5. K. Ritchie and J. Harris, *Anal. Chem.*, 41, 163 (1969).
6. D. N. lisitsyna and D. P. shcherbov, *Zh. Anal. Khim.*, 28, 1203—1205 (1973).
7. E. A. Bozhevol'nov, *Tr. VN11 khim. Reakt.*, No. 24, Goskhimydat, 1960.
8. К. П. Стольтаров, А. В. Дробащинко, *Вестн. Ленингр. унив.*, 20, Сер. Физ. хим., 1965, 2, 120.
9. L. Zeltser, z. Maksimyeheva and S. Talipov, *Referat. Zh. khim.* 19GD, 1970, Abstr. No. 1G 85.
10. K. J. Koh, D. E. Ryan, *Anal. Chim. Acts*, 52, 503 (1970).
11. F. Grases and F. Garcia—Sanchez, *Anal. Chim.*

- Acta, 119, 359 (1980).
12. H. Goto, Sci. Rept. Tohoku Imp. Univ., Ser. 1, 29, 204 (1940). Dancknortt and J. Eisenbrand, Lumineszenzanalyse in filtrierten ultra-violetten Licht, Leipzig, 1956.
 13. 陈国珍《荧光分析法》, p. 122 (1975).
 14. W. E. Höhne, H. Wessner, Anal. Chim. Acta, 93, 345—348 (1977).
 15. 陈国珍《荧光分析法》, p. 122 (1975).
 16. K. Ritchie and J. Harris, Anal. Chem., 41, 163 (1969).
 17. J. B. Allred and G. D. Guy, Anal. Biochem, 29, 293 (1969).
 18. M. A. Konstantionova-Shlezinger, Fluorimetric Analysis, 1965.
 19. M. P. Grigor'eva, E. N. Stepanva and G. A. Sapozhnikova, Vop. Pitan, 28(3), 65(1969).
 20. M. T. El-Ghamry, W. Frei and G. W. Higgs, Anal. chim. Acta, 47, 41 (1969).
 21. D. E. Ryan and B. K. Pal, Anal. Chim. Acta, 44, 385(1969).
 22. Itsuo Mori, Takehisa Enoki and Toyoko, Mano, Jap. Anal., 22, 1202(1973).
 23. P. R. Haolded, Talanta, 1, 1(1977); CA. 69, 92683 (1968).
 24. *ibid.*; CA. 71, 18572 (1969).
 25. *ibid.*
 26. *ibid.*

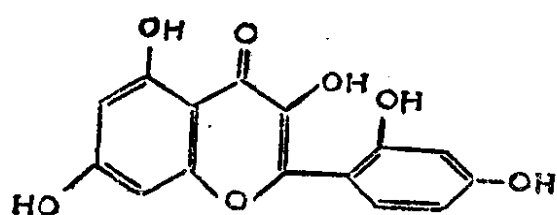
27. N. K. Podbevevskaya and V. Sushkova, *Zavod. Lab.*, 36, 1948 (1970).
28. N. K. Podberevskaya and V. Sushkova and E. A. Shilenko, *ibid.*, 36, 1197 (1970).
29. *ibid.*, 36, 1048 (1970).
30. A. Murata and T. Ujaihara, *Buneshi Kagaku*, 10, 497 (1961).
31. J. Marienko and I. May, *Anal. Chem.*, 40, 1137 (1968); B. T. Taskarin and D. P. Shcherbov, *Sb. Stat. Aspir. Soiskatel. Min. Vyssh. Sredneazi- at, Obrazov. Kaz. SSR, Khim. khim. Tekhnd.*, 3-4, 208 (1965).
32. N. K. Podberevskaya, E. A. Shilenko and D. P. Shcherbev, *Zavod. Lab.*, 36, 661—663 (1970).
33. L. A. Grigoryan, D. A. Mikaelyan and V. M. Tarayan, *Arm. Khim. Zh.*, 29, 929—934 (1976).
34. Н. К. Подберезская, Е. А. Шиленко, Д. П. Щербов, *Зан. лаб.*, 1970, 36, 661.
35. Grases, F., Garcia-Sanchez, F. and Valcarcel M., *Anal. Lett.*, Part A, 1979, 12 (7), 803—810.

第三节 铍、镁、钙、锶、钡的荧光分析

一、铍的荧光分析

(一) 概述.

首先用于铍的荧光分析试剂是桑色素;



铍离子在碱性溶液中与桑色素的反应产物在紫外光照射下会发生黄绿色荧光。由此建立的荧光分析法，可检测各种样品中的铍。

各类羟基蒽醌类试剂，也能与铍络合生成在紫外线下发橙红色荧光的化合物。如：1—氨基—4—羟基蒽醌，1,4—二羟基蒽醌，1—羟基—2—羧基蒽醌及醌茜磺酸等。

2—羟基—3—萘甲酸，可与铍形成1:1络合物，在紫外光照射下会发生蓝色荧光。由此建立的荧光分析方法，其灵敏度可达0.2ppb。取代的2—羟基—3—萘甲酸，如DHNA，也能与铍形成1:1络合物而用于荧光测定。

用8—羟基喹哪啶检测铍，有很高的灵敏，可检测至低于1ppb。但选择性不好，许多阳离子都会产生干扰。

铍与四环素和5,5—二乙基-2-硫代巴比妥酸能生成1:1:1的三元络合物，在紫外线照射下发生蓝紫色荧光。也可用此法作铍的荧光检测。

铍的荧光试剂较多。各种试剂检测铍的灵敏度，可用下表列出：

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
1—氨基—4—羟基蒽醌	荧光络合物	0.2
安息香	荧光络合物	0.1
1,4—二羟基蒽醌	荧光络合物	0.2
2—(2'—羟基苯基)苯并噻唑	荧光络合物	0.1

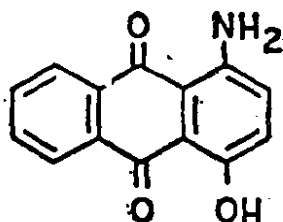
续 表

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
8-羟基苯喹哪啉	荧光络合物	0.001
桑色素	荧光络合物	0.01
2-羟基-3-萘甲酸	荧光络合物	0.002
取代的2-羟基-3-萘甲酸	荧光络合物	0.09
四环素+5,5-二乙基 -2-硫代巴比妥酸	荧光络合物	0.10
2-乙基-5-羟基-3-甲基色酮	荧光络合物	0.001
1-羟基-2-羧基蒽醌	荧光络合物	0.03
3-氨基-5-磺基水杨酸	荧光络合物	0.005
2-2-(吡啶基)苯酚	荧光络合物	0.002
靛茜磺酸	荧光络合物	0.001
钙试剂	荧光络合物	0.01
伞形酮	荧光络合物	0.01
4-羟基-3-(水杨叉氨基)苯磺酸	荧光络合物	0.002

(二) 分析方法。

1. 1-氨基-4-羟基蒽醌法⁽¹⁾。

试剂结构：



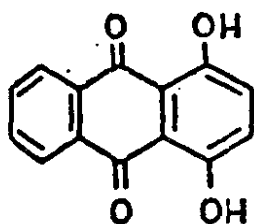
它在碱性溶液中与铍离子生成的化合物，在紫外光照射下会发生红色荧光。荧光峰650nm。

操作时，碱溶液的最佳浓度是0.25N，超过0.3N，荧光强度减弱。此反应很有特效，只有较高浓度的铍（3.5mg/5ml）存在有类似的反应。当氯化钠的浓度为1g/5ml时熄灭络合物的荧光。有色阳离子，如铬，只有在高浓度时才有干扰。盐酸，硝酸和硼酸的阴离子不发生干扰。

此法可检测铍至0.2PPm。

2. 1,4—二羟基蒽醌法⁽²⁾。

试剂结构：

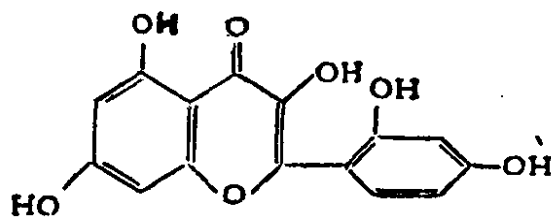


它在碱性溶液中与铍离子反应，其产物在紫外光照射下发生红橙色荧光。荧光峰570—640nm。

此法测定范围为1—3.8微克铍/毫升，曾用于矿石的分析。铁、锰、镁等离子存在时会引起荧光强度降低， CrO_4^{2-} 离子存在时会将试剂氧化，均需加以分离。

3. 桑色素法⁽³⁾。

试剂结构：



它在碱性溶液中与铍生成1:1和1:2络合物，在紫外光的照射下会产生强的黄绿色荧光。

此法灵敏度为0.001—0.4 μg /25ml。

操作手续：

缓冲溶液的配制：在200毫升水中溶解15克重结晶的DTPA

(二乙三氨五乙酸), 加入75毫升重蒸馏的哌啶, 冷却。加入20克无水硫酸钠于150毫升水中并稀释至500毫升。

络合剂溶液的配制: 在250毫升水中溶解60克氢氧化钠和320克无水过氯酸钠, 在布氏漏斗上通过玻璃纤维过滤, 在50毫升水和20毫升氢氧化钠—过氯酸钠溶液中溶解13克DTPA和10毫升三乙醇胺溶液。将它加入上述溶液中并稀释至500毫升。酸化样品并试验氧化能力, 如发现问题, 加入少量硫酸钠加以校正。

在浓过氯酸溶液中, 按下法处理各种含铍的样品:

为了除去干扰离子, 在0.5毫升样品的过氯酸溶液中加入1毫升4.9% 8水硫酸铝溶液(溶在1:100过氯酸中)。加入3毫升络合剂溶液和3滴0.01%奎宁溶液(溶在1%过氯酸中)滴加过氯酸中和, 直至在紫外光下显出亮蓝色荧光。加入1滴过量的过氯酸, 然后加入1N氢氧化钠直至荧光熄灭。加入5毫升缓冲溶液和1毫升0.0075%桑色素的40%乙醇溶液。稀释至25毫升并在标准温度下放置20分钟, 作荧光读数, 荧光峰360nm。

加入DTPA主要是消除铈、钇、镧和锂的干扰。

假如在制备的样品中铍的浓度不足于荧光检测, 则按下法浓缩:

将溶液通过冷的循环水冷却以降低在中和时放出的热, 加入10毫升EDTA二钠盐以络合重金属, 整个溶液仍保持酸性, 否则金属氢氧化物或磷酸盐将沉淀, 当PH升高时在加入EDTA时它们将不能再溶解, 加入2滴0.1%酚红指示剂溶液并用氢氧化铵部分中和, 假如有酸存在, 放出热, 则需冷却以使热量散尽。

加入0.25毫升乙酰丙酮并激烈摇荡几秒钟, 逐滴加入氢氧化铵直到指示剂颜色刚好变成红色的碱性形式。如产生麻烦, 再酸化, 加入更多的EDTA并再次加入氢氧化铵。用氯仿分两次, 每次10毫升萃取, 每次激烈摇荡两分钟, 在摇荡前几秒钟加入3到4滴乙酰丙酮。

配制清洗液：在100毫升水中，加入1毫升硫酸和2毫升10% EDTA二钠盐溶液，加入2滴0.1%酚红指示剂，然后加入氢氧化铵至变成红色。

将萃取液合并，加入20毫升清洗液摇荡1分钟，将氯仿提取液加至3毫升过氯酸和3毫升硝酸中，而用10毫升氯仿和2滴乙烯丙酮萃取清洗液，然后将氯仿层并入上述氯仿提取液中，蒸去氯仿。在氯仿蒸去后，至直在硝酸和乙烯丙酮之间的激烈反应平静下来。沸腾直至几乎所有的过氯酸全部逐出，然后用0.5毫升此酸刚好浸润烧杯底部。

再按上法中“为了除去干扰离子，在0.5毫升过氯酸样品溶液中，加入……”操作。

在天然水中铍的测定⁽⁴⁾：

在30毫升含有1.2微克铍的样品中，加入10毫升10% EDTA溶液和1毫升5%乙酰丙酮溶液，调节PH=6-8，用氯仿分两次，每次10毫升萃取铍络合物，在萃取中用5%氢氧化钠溶液调节PH值。用10毫升0.1% EDTA溶液清洗合并的提取液，在有机层中加入2毫升硝酸和1毫升过氯酸，蒸发至几乎干，倒入10毫升水中，加入2.5毫升含有2.86%硼酸和9.6%氢氧化钠的溶液（即PH=13的缓冲液），再加入0.5毫升0.02% 桑色素的乙醇液。稀释至25毫升，放置20分钟后作荧光读数。

矿物中铍的测定⁽⁵⁾：

络合剂溶液的配制：在水中溶解1毫克偏亚硫酸钾，2.5克抗坏血酸，2.5克柠檬酸和5克EDAP二钠盐，并稀释至100毫升。如果需要，在EDTA络合液中滴入10%氢氧化钠溶液。

缓冲溶液的配制：在水中溶解28.6克硼酸和96克氢氧化钠并稀释至1升。

将0.1克样品加至铂坩埚中，加入1毫升硫酸、1毫升硝酸和5毫升氢氟酸，蒸干，加入0.5克四硼酸钠和1.5克碳酸钠一起

在1000℃熔融5分钟，取出放至10毫升1:1硫酸中，并加入40毫升水，过滤。取滤液10毫升整，稀至100毫升，加入2毫升络合剂溶液并用5%氢氧化钠刚好调至碱性（用刚果红试纸）。加入1毫升硼酸盐缓冲溶液和1毫升0.02%桑色素乙醇溶液，稀至10毫升，放置5分钟后，在365nm处进行荧光读数。

另外，铍也可用乙烯丙酮萃取或用磷酸钛沉淀，然后用络合试剂处理⁽⁶⁾。

对于硅矿的分析，在挥发除去硅后，在巯基乙酸存在下铍以氢氧化物沉淀。过滤，干燥并灰化，与氢氧化钠一起熔融并用水萃取。过滤，用盐酸中和并稀释至已知体积。取此溶液一份，或加入2.5毫升过磷酸四钠的饱和溶液，或加入1毫升10%EDTA溶液。加入1毫升5%KCN溶液和1毫升1%氯化亚锡的1N氢氧化钠溶液。加入10%氢氧化钠溶液以提高溶液PH至11.5。加入0.2毫升0.05%桑色素丙酮溶液并静置2分钟，再作荧光检测。 $\lambda_{ex}375nm$, $\lambda_{em}400nm$ 。

用2.5微克/毫升荧光素作参考标准⁽⁷⁾。

生物样品中铍的测定⁽⁸⁾：在氢氧化钠溶液中溶解15克EDTA二钠盐并稀释至100毫升。配制钛溶液：一种方法是将2.7克氟钛酸钾溶于1:1硫酸中，加热直至氢氟酸完全蒸发掉并稀释至100毫升；另一种方法是：在1:3硫酸中，溶入0.83克二氧化钛和8.8克过硫酸钾，并用1:3硫酸稀释至100毫升。

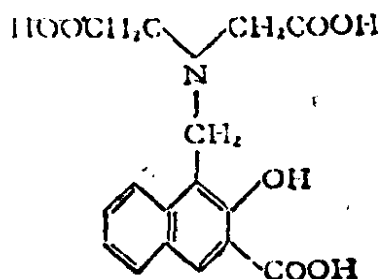
用10毫升硫酸，10毫升硝酸和5毫升过氯酸提取100毫升尿，10毫升血或10克湿组织样品，直至澄清和无色。有时需稀释并加入5毫升10%磷酸氢二钠溶液，10毫升15%EDTA二钠盐，1毫升钛溶液和4滴甲基橙指示剂溶液，加入氨水直至指示剂变成橙色，并加入10毫升20%醋酸钠溶液。滤去锰和磷酸钛，用2%硫酸钠溶液洗。将沉淀溶在5毫升2%氢氧化钠溶液中，加入5毫升水，离心分离铍酸钠溶液，稀释至已知体积，取1毫升整，

加入 4 毫升 1 % 氢氧化钠溶液, 0.5 毫升 5 % EDTA 二钠盐溶液和 0.1 毫升 0.02 % 桑色素乙醇液, 稀至 10 毫升, 在 360nm 处测荧光。

尿中铍的测定⁽⁹⁾: 取 500 毫升样品, 加入 10 毫升 EDTA 二钠盐饱和溶液。加入 10 % 氢氧化钠溶液升至 PH = 8, 加入几滴 10 % 丹宁溶液和 20 毫升 1 % 亚甲蓝溶液。搅拌 7 毫升桑色素的丹宁溶液, 静置, 过滤。用 0.5 % 氯化铵溶液洗沉淀并调节 PH 至 8。将滤纸干燥, 灰化, 在 500°C 点燃。加入 2 毫升过氯酸和 0.1 毫升氢氟酸, 加热至几乎干, 取出放入 3 毫升 1 : 6 盐酸中, 加入 2.5 毫升 5 % EDTA 四钠盐溶液和 1 毫升 3 % 三乙醇氨溶液以掩蔽重金属。加入 10 % 氢氧化钠溶液将 PH 值升至 11.6—11.9。在冰中冷却 10 分钟, 加入 0.2 毫升 0.005 % 桑色素乙醇溶液, 稀释至 10 毫升并在冰中贮存 10 分钟。转移 5 毫升至荧光分光光度计, 温度维持在 15 ± 0.1°C 作荧光读数。温度降低时阻碍读出这样低浓度的铍。

4. 取代的 2—羟基—3—萘甲酸 (DHNA) 法⁽¹⁰⁾。

这类试剂中常用的是 1—(二羧甲基氨基甲基)—2—羟基—3—萘甲酸, 其结构式为:



在 PH = 6.8 时, 它能与铍生成 1 : 1 络合物, 显天蓝色荧光。λ_{ex} 360nm, λ_{em} 450nm。

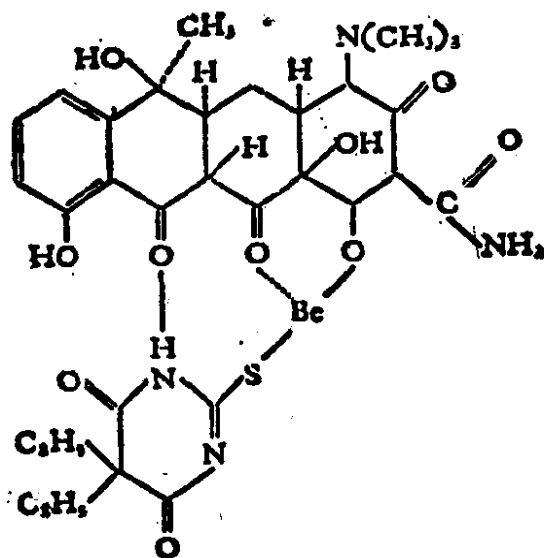
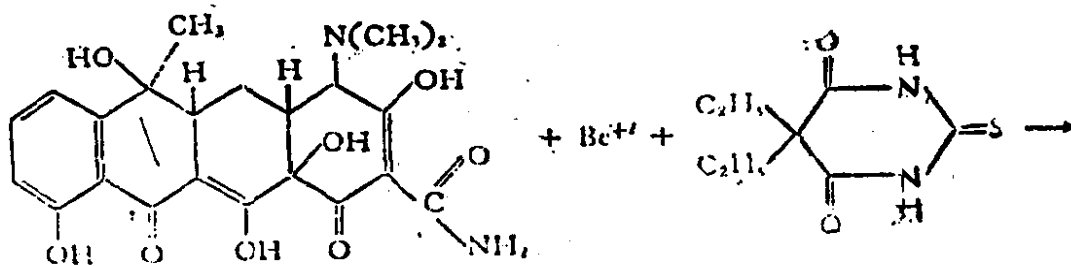
操作时, 试剂溶液用 0.1 % 的氢氧化钠溶液 (氢氧化钠浓度为 5 %) 然后每 10 毫升溶液中加 200 毫克 EDTA, 以掩蔽铝、镁的干扰。再与样品溶液混合后即可显出荧光。

此法检测范围为0.09—1.8 μ g。在钙—EDTA络合物的存在下，只有铝、镁、铕离子，磷酸根，亚砷酸根，草酸根，柠檬酸根，酒石酸根和氟离子会引起干扰。

5. 四环素和5,5—二乙基—2—硫代巴比妥酸法⁽¹¹⁾。

在PH9.0时，试剂与Be生成1:1:1的三元络合物，发蓝紫色荧光。 $\lambda_{ex}406nm$, $\lambda_{em}506nm$ 。此法能检测0.1ppm铍，20倍量的铁、镁、钙、钡有干扰。

反应方程式为：



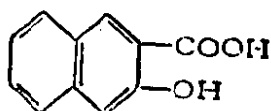
操作手续：

在PH=9时，在50毫升含有5毫升0.05M硼酸盐缓冲剂的样品溶液中，加入1.5—2毫升0.02%盐酸四环素溶液和大于1.5毫升0.02%5,5—二乙基—2—硫代巴比妥酸的乙醇溶液，即形

成1 : 1 : 1络合物, 显出最强的荧光, 然后作荧光读数。

6. 2-羟基-3-萘甲酸法⁽¹²⁾。

试剂结构:



它与Be形成1 : 1络合物, 在紫外光照射下会发生蓝色荧光。铝和其它金属离子对测定的干扰, 可利用CDTA (反-1,2-二氨基环己烷四乙酸) 的掩蔽作用而加入消除。

此法灵敏度为0.2ppb。

操作手续:

PH7.5的缓冲溶液的配制: 将50毫升氢氧化铵稀释至800毫升, 加入约42毫升醋酸, 调节PH至7.5, 然后稀释至1升。

钙/CDTA溶液的配制: 将25毫升0.1M氯化钙溶液与6毫升0.1MCDTA混合。

在含有0.018—0.18 μ gBe的样品溶液中, 加入5毫升钙/CDTA试剂并用1 : 10氨水将PH提高到8。加入5毫升PH7.5的氢氧化铵-醋酸铵缓冲溶液和5毫升0.02102% 2-羟基-3-萘甲酸溶液, 稀释至100毫升并放置30分钟后作荧光读数。 λ_{ex} 380nm, λ_{em} 460nm。用硫酸奎宁在350nm和450nm处比较,

青铜中铍的测定⁽¹³⁾: 在10毫升1 : 1硝酸中溶解0.02克样品并蒸发至干, 加入10毫升水并再次蒸发至干。在水中溶解残渣并稀释至100毫升。取一份约含1.5—2.2微克铍的试液, 滴加2N醋酸钠溶液至PH=3—4, 加入0.5毫升0.0001M试剂和2毫升0.0001MEDTA钠盐, 稀释至10毫升, 读数。 λ_{ex} 380nm, λ_{em} 460nm。

7. 2-乙基-5-羟基-3-甲基色酮或5-羟基-7-甲氧基-2-甲基色酮法⁽¹⁴⁾。

试剂与 Be^{2+} 离子生成的络合物的氯仿萃取液在阳光照射下会发生强烈的荧光。方法的测定范围为0.001—0.025微克/毫升。Al、Sc、Zr、Te、Sb、Bi、Ga、Y、Fe、W、V等元素有干扰。

操作手续：

将样品溶液与2.5毫升20mM试剂的甲醇溶液，2.5毫升 $\text{PH}=7.5$ 的0.3M硼砂缓冲溶液混合，并稀释至25毫升。1小时后用氯仿萃取，再用硫酸钠干燥，然后作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}405\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}483\text{nm}$ 。

8. 1—羟基—2—羧基蒽醌法⁽¹⁵⁾。

试剂可与Be络合而作荧光检测。

操作手续：

将含有30—130PPb的样品溶液10毫升，与12毫升乙醇、1毫升0.925M试剂乙醇溶液混合，加入0.5毫升0.2N氢氧化钠溶液并稀释至25毫升，放置30分钟后作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}470\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}580\text{nm}$ 。锌、铝和钇有干扰。

9. 3—氨基—5—磺基水杨酸法⁽¹⁶⁾。

在 $\text{PH}=7$ 时，铍与试剂形成1：3的络合物，荧光峰465nm。检测范围为5—100ng/ml。铀酰离子、磷酸根和柠檬酸根熄灭产物荧光。铁铝或锌离子可用EDTA二钠盐掩蔽。其它金属容许量为10倍Be量。

10. 2—2—(吡啶基)苯酚法⁽¹⁷⁾。

在 $\text{PH}12.7—12.9$ 的50%乙醇中，试剂与铍生成蓝色荧光络合物。检测灵敏度1.6ng/ml。EDTA二钠盐可掩蔽许多干扰离子，锆干扰较小，铁、钴、铬和氟离子有严重干扰。

11. 靛茜磺酸法⁽¹⁸⁾。

试剂能与Be反应而用于荧光检测。

操作手续：

在铍的样品溶液中，加入1毫升0.5mM试剂乙醇溶液和2

毫升0.1N醋酸，用水稀释至6毫升，再用乙醇稀释至50毫升，放置1小时后作荧光读数， $\lambda_{ex}425nm$ ， $\lambda_{em}475nm$ 。

此法灵敏度为1—7 ppb。

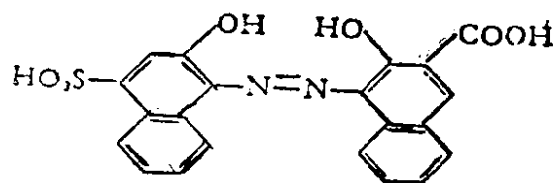
12. 2—甲基—8—羟基喹啉法⁽¹⁹⁾。

试剂与铍离子所形成的络合物的氯仿萃取液在紫外光照射下会发生黄绿色荧光，测定范围为0.0075—0.075微克铍/毫升。

铋、镉、铬、铜、钴、钨、铁、镍、锡、钛、锌等离子对此法有干扰。除钛外，上述离子均可用汞阴极电解法除去。钛离子和大量铝、铁离子存在时，可用8—羟基喹啉萃取法，使它们与铍离子分离。

13. 钙试剂法⁽²⁰⁾。

试剂结构：



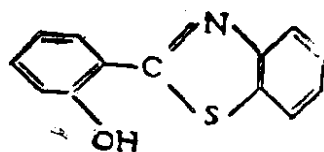
它与铍离子的中性溶液在紫外光照射下会发生强烈的青色荧光。铍离子浓度在0.01—0.12PPm范围内，荧光强度和铍离子浓度呈线性关系。铝、铁、锰离子和磷酸根、硅酸根等对此法有干扰。

14. 繖形酮法⁽²¹⁾。

试剂在紫外光激发下会发生强荧光，荧光峰450nm。碱性磷酸酶的存在对试剂磷酸盐的水解会具有催化作用，因而增强溶液的荧光强度。铍离子的存在将对此催化效应起抑制作用，从而导致荧光强度—时间曲线斜率的降低，其降低程度直接取决于阻化剂铍离子的浓度。根据这一原理可以进行铍含量的测定。测定范围为0.01—0.3ppm。

15. 2—(邻—羟苯基)—苯间氮硫茆法⁽²²⁾。

试剂结构：



它在酸性溶液 (PH=4.5) 中与铍离子形成的络合物, 在紫外光照射下会发生蓝白色荧光。PH=6 时, 反应产物的荧光达到峰值。能检测铍至 0.1PPm。锌和铝也产生荧光, 铁、铬、锡、铋、锑、锆和钛的存在, 也能产生较弱的荧光。但这些元素可用罗谢尔盐掩蔽。

16. 其它方法。

安息香法⁽²³⁾。此法可检测低于 0.1PPm 的铍。

4-羟基-3-(水杨叉氨基)苯磺酸法⁽²⁴⁾。在 PH=9 时, 试剂与铍络合可作荧光检测。λ_{ex}343nm, λ_{em}430nm。此法检测浓度范围为 2—400ngBe/ml。

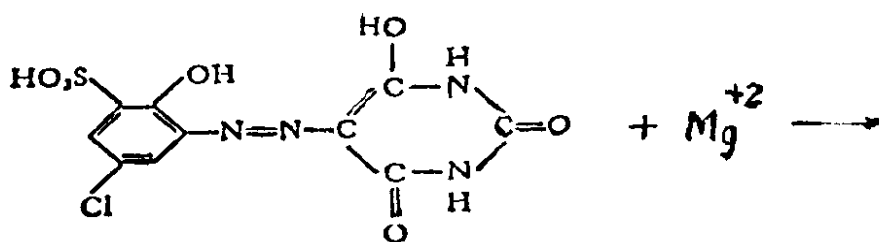
3-羟基喹啉法⁽²⁵⁾。此法检测灵敏度为 0.001 微克/毫升。

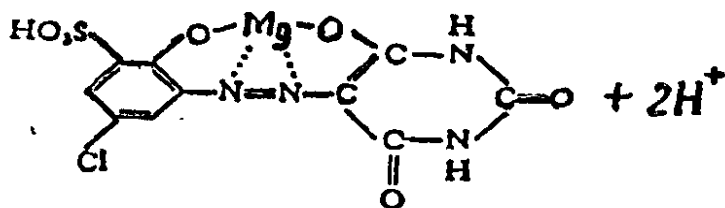
二、镁的荧光分析

(一) 概述。

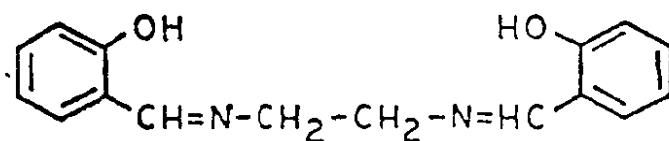
镁的荧光分析法较多。在这些方法中, 许多有机试剂都能与镁离子络合生成荧光化合物。其中荧光镁试剂及二水杨叉乙二胺的灵敏度高。

荧光镁试剂由羟基偶氮化合物与巴比妥酸缩合而成, 它与镁发生下列反应: 产物在紫外光照射下会发生黄色荧光。此法能检测 4PPb 镁。





二水杨叉乙二胺由水杨醛与乙二胺缩合而成，试剂结构为：



它与镁离子在二甲基甲酰胺中以1 : 1螯合，所生成的化合物，在紫外线照射下会发生亮蓝色荧光。此法能检测0.17ppb镁。有人认为它是目前检测镁中最灵敏的荧光试剂。所生成化合物的荧光光谱图如下：

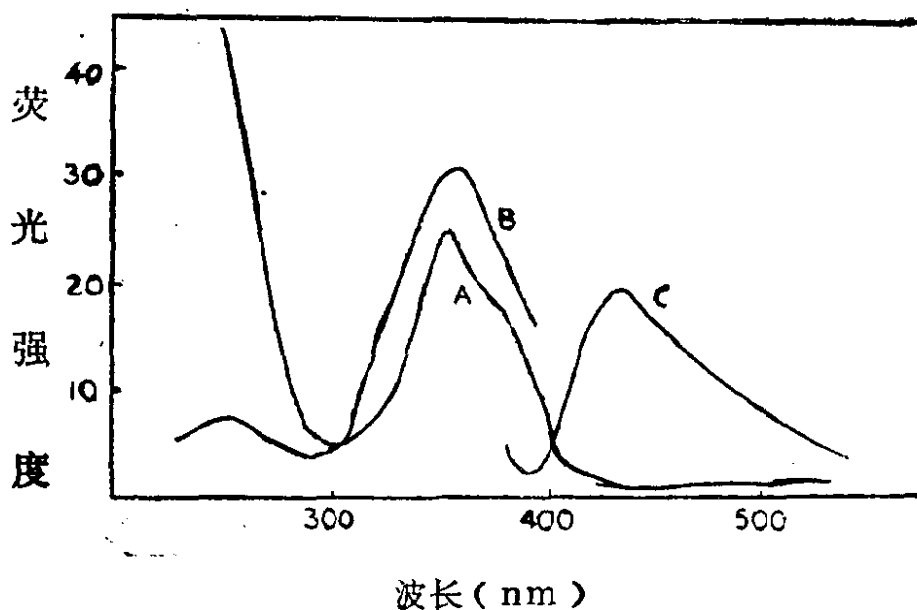


图 3—1，镁—二水杨叉乙二胺螯合物的荧光光谱
A：吸收 B：荧光激发 c：荧光发射

许多在酸中能与铝络合的有机配位体，都能用于在碱性介质

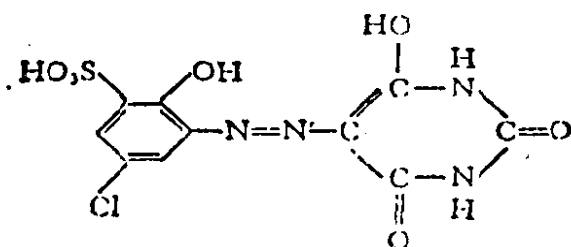
中镁的测定。例如2,2'-二羟基偶氮苯及1-(8-羟基喹啉-7-偶氮)-2-萘酚-4-磺酸, 都是检测镁的好试剂。

镁的其它的荧光试剂有7-碘-8-羟基喹啉-5-磺酸(俗称铁试剂)、8-羟基喹啉-5-磺酸、8-羟基喹啉2,2'-二羟基偶氮染料、3,3',4'-三羟基黄酮、N,N'-双-水杨叉-2,3-二氨基苯并咪唑、甲基水杨酸盐、钙黄绿素、桑色素、邻羟基苯偶氮比巴妥酸、3-羟基-2-萘甲酸、1-(2-羟基-3-磺酸-5-氯苯偶氮)-2'-羟基萘及茋烷等。

(二) 分析方法。

1. 荧光镁试剂法⁽²⁶⁾。

试剂由羟基偶氮化合物加至巴比妥酸中缩合而成, 其结构为:



它和镁离子在PH=10的溶液中所生成的化合物, 在紫外光照射下会发生黄色荧光。

此法能检测4PPb镁。少量的铜、镓、锌、锡、铊、汞、钴、钙、铝、铁、亚铁离子有干扰。当加入酒石酸于试样溶液后, 则虽钙量高出镁量一千倍, 对测定也无干扰。

操作手续:

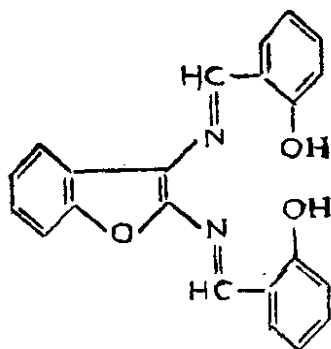
将血清或尿用等量的0.001%试剂溶液在PH=10的甘氨酸缓冲溶液中混合, 30分钟后读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}610\text{nm}$ 。用样品的丙酮溶液时显出最强的荧光。

2. 2,3-双(水杨叉氨基)苯并咪唑法⁽²⁷⁾。

试剂结构:

镁的各种荧光分析法的检测灵敏度比较为:

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
荧光镁	荧光络合物	0.004
2,3-双(水杨叉氨基)苯并咪喃	荧光络合物	0.002
0,0'-二羟基偶氮苯	荧光络合物	0.1
钙黄绿素	荧光络合物	0.01
8-羟基-3,4'-二甲基黄酮	荧光络合物	0.01
8-羟基喹啉-5-磺酸	荧光络合物	0.1
荧光镁IREA	荧光络合物	0.01
柔色素	荧光络合物	0.1
3,3',4'-三羟基黄酮	荧光络合物	0.5
7-碘-8-羟基喹啉-5-磺酸	荧光络合物	1.0
邻羟基苯偶氮巴比妥酸	荧光络合物	1.0
8-羟基-2-萘甲酸	荧光络合物	1.0
二水杨叉乙二胺	荧光络合物	0.0002
1-(8-羟基喹啉-7-偶氮) -2-萘酚-4-磺酸		0.01
1-(2-羟基-3-磺酸-5- 氮苯偶氮)-2'-羟基萘		0.02
8-羟基喹啉		0.01
荧 烷		0.01



它与镁离子在 $\text{PH}=10.5$ 的50%甲醇水溶液中生成会发生橙色荧光的络合物,钙可用加入2毫升1:2的0.1MEDTA—0.1M溴化铯来掩蔽。方法测定范围为2—100PPb。锌、铝离子在上述条件下产生微弱荧光。少量的钙、镉、钴、镍、铁、亚铁、银、铅、汞有干扰,但大多数干扰离子可用铜铁灵或二乙基硫代氨基甲酸从水溶液中萃取而除去。

操作方法:

在没有萃取的情况下镁的测定:缓冲溶液的配制:在500毫升50%甲醇中,溶入60毫升三乙胺,并用盐酸调节 $\text{PH}=10.5$ 。

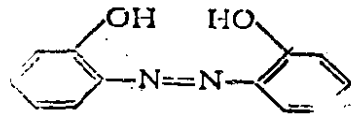
将含有0.1—6微克镁的样品溶液,与25毫升甲醇,1毫升缓冲液混合。如需要的话,加入掩蔽剂,放置5分钟。然后加入5毫升0.02%试剂的二噁烷溶液,在15—40分钟内读数, $\lambda_{\text{ex}}475\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}545\text{nm}$ 。

血浆的分析不必加掩蔽剂,水的分析可加入2毫升铯-ED—TA(50毫升0.1MEDTA与100毫升0.1M溴化铯溶液混合),以清除钙的干扰。

在萃取的情况下镁的测定:在25毫升含有0.1—6微克镁的样品溶液中,如需要的话,加入掩蔽剂,2毫升吡啶和1毫升二乙胺。用25毫升甲基异丁基酮萃取(其中含2毫升0.1%试剂的二噁烷溶液),将萃取剂稀至50毫升后作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}525\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}555\text{nm}$ 。

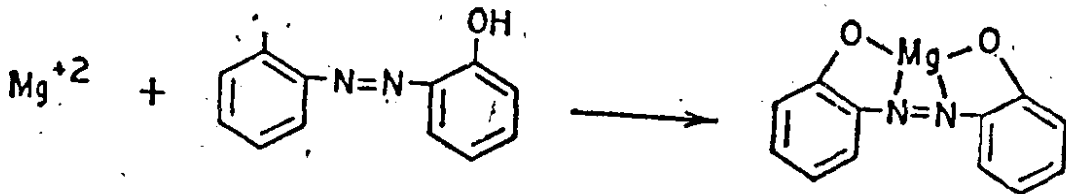
3. 0,0'-二羟基偶氮苯法⁽²⁸⁾。

试剂结构:



它与镁离子在碱性溶液中(PH11.0—12.2)所生成的化合物,在紫外光照射下会发生绿黄色荧光,荧光峰580nm。此法测定范围为0.1—0.5微克镁/毫升。铁、锌、铜等离子对此法有干扰,须加以掩蔽。此法曾用于石灰石、水泥及血清中镁的测定。

镁与试剂的反应式如下:



操作手续:

贮存试剂的配制: 在10毫升乙醇、10毫升2N氢氧化钾和足够量的水中,溶解0.5355克试剂,稀释至1升,可以贮存。

工作试剂的配制: 将100毫升水,100毫升2.5M氯化钾和67毫升乙二胺混合。如在样品中存在铝,加入50毫升三乙醇胺作为掩蔽剂,再加入100毫升贮存试剂并稀释至1升。

从含有5—25毫克镁而不含有机物质中分离出样品溶液,不超过15毫升。如样品中含有铁,连续地加入15毫克连二亚硫酸钠,1毫升浓氨水和2毫升5%氰化钾溶液,逐渐煮沸2分钟。如果铜或锌存在而铁不存在,则仅需加入2毫升5%氰化钾溶液,冷却后,加入10毫升工作试剂并稀释至50毫升,作荧光读数。 $\lambda_{ex}470nm$, $\lambda_{em}580nm$ 。

4. 钙黄绿素法⁽²⁹⁾。

试剂水溶液在偏碱性时呈黄绿色荧光,它能与镁离子反应而用于荧光检测。

操作方法:

用1:1硝酸-过氯酸提取组织样品。作为血清样品稀释至1:10, 在样品溶液中加入0.25毫升0.25N氢氧化钾, 3毫升0.01mM试剂, 0.25毫升0.1N盐酸, 0.4毫升1mM乙二醇一双 β -乙醚-四乙酸以掩蔽钙以及加入0.3毫升0.01M2,3-巯基丙烯-醇以掩蔽锌, 稀释至3毫升, 然后作荧光读数, $\lambda_{ex}480\text{nm}$, $\lambda_{em}530\text{nm}$ 。此法检测限度为10ng。

5. 3-羟基-3,4'-二甲基黄酮法⁽³⁰⁾。

试剂与镁离子络合而用于荧光测定。

尿中镁的测定:

稀释样品至1:9, 取5毫升整, 通过 5×0.5 Dowex50w-x8交换柱, 用60毫升水淋洗, 再用1:3盐酸提取。将第一次的提取液15毫升稀释至20毫升, 并蒸发至5毫升整, 在70°C将残渣干燥30分钟, 然后溶在5毫升水中并加入5毫升PH=10.7的1M铵盐缓冲溶液。取0.5毫升整, 与1毫升0.25mM试剂的二甲基甲酰胺溶液混合并用二甲基甲酰胺稀释至10毫升, 然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}445\text{nm}$, $\lambda_{em}497\text{nm}$ 。

6. 8-羟基喹啉-5-磺酸法⁽³¹⁾。

试剂与镁形成荧光络合物而用于检测。

操作手续:

取一份含有5—100微克镁和没有硫酸盐的样品溶液, 加入5毫升0.1%试剂溶液和10毫升PH=9.5的氯化铵-氢氧化铵缓冲溶液。假如钙存在, 分离后测定并用稍微过量的5%乙二醇-双 β -乙醚-四乙酸掩蔽它。几分钟后过量的掩蔽剂用2毫升10%氯化钡溶液螯合除去。如铜、镍、钴、镉、钨、钼或镉离子存在, 用三乙醇胺和羟胺掩蔽, 稀释至50毫升, 用365nm射线激发, 并用绿色滤光法测荧光。

此法检测范围为0.1—2微克/毫升。

7. 荧光镁IREA法⁽³²⁾。

试剂与镁能形成荧光络合物而用于检测。

操作手续：

将含有1微克镁的样品蒸干并点燃5分钟加入3滴2N的氢氧化钠并再次蒸干和点燃5分钟。取出放入4毫升PH=10的甘氨酸缓冲液中并加入1毫升丙酮。加入0.3毫升0.01%试剂溶液。用紫外光辐射，进行荧光检测。

8. 桑色素法⁽³³⁾。

试剂能与镁络合而用以检测。

操作手续：

将2毫升样品溶液与1毫升PH=9的硼酸盐缓冲溶液，1毫升乙醇和0.75毫升0.1%桑色素甲醇液混合，用甲醇稀释至10毫升，用汞灯激发，在435.8nm测荧光。遵循比尔定律的浓度范围为0.1—0.9微克镁/毫升。

9. 3,3,'4'-三羟基黄酮法⁽³⁴⁾。

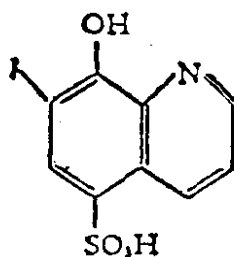
试剂能与镁络合而用以荧光检测。

操作手续：

在血清蛋白或尿中，在5微克钙存在下，低于0.5微克镁的测定：将1毫升样品与1毫升PH=10.7的1M氨水缓冲溶液混合。取1毫升整与1毫升0.5mM试剂的二甲基甲酰胺溶液混合并用二甲基甲酰胺稀释至10毫升，放20分钟后测量。 $\lambda_{ex}450nm$ ， $\lambda_{em}503nm$ 。此法灵敏度为0.5微克/毫升。

10. 7-碘-8-羟基喹啉-5-磺酸法⁽³⁵⁾。

试剂俗称铁试剂，其结构为：



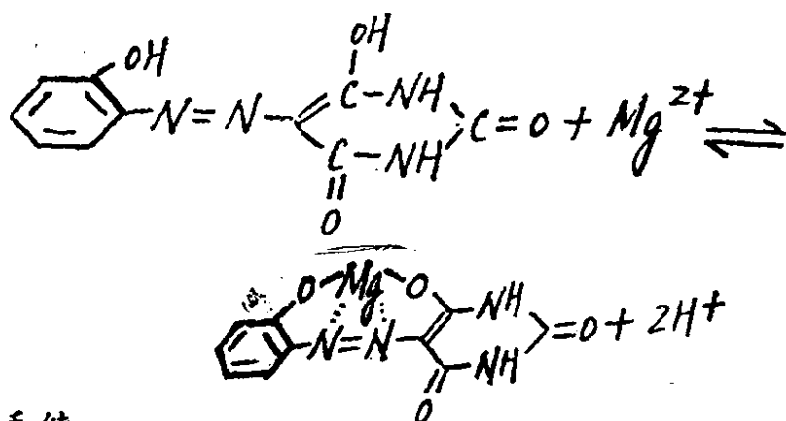
它与镁离子所组成的络合物，在微碱性溶液中（PH7.9—8.6）在紫外光照射下会发生绿黄色荧光。此法测定范围为1—12微克镁/毫升，锌离子与镉离子与此试剂也会发生荧光。这一方法经改进后曾用于海水中镁的测定。

操作手续：

往中性试样溶液中加入1N氯化铵溶液2毫升，1N氨水溶液3毫升，丙酮7.0毫升，0.2%试剂溶液1毫升。释稀至50毫升，放置25分钟，在紫外光照射下于520nm测定荧光强度，由工作曲线求出镁的含量。

11. 邻羟基苯偶氮巴比妥酸法⁽³⁶⁾。

试剂与镁离子在碱性条件下，生成有荧光的络盐，其反应式如下：



操作手续：

试剂配制：a. 试剂饱和酒精溶液；b. 50%三乙醇胺水溶液。临用时将a、b以7:3（v/v）混合。

将样品溶液与试剂混合，静置一会儿作荧光测量。

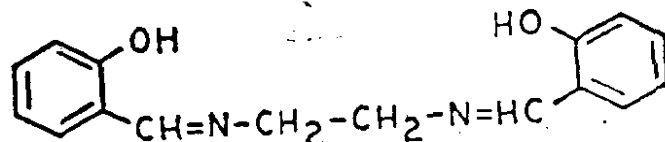
12. 3-羟基-2-萘甲酸法⁽³⁷⁾。

在1—5N氨水中，镁与试剂形成1:2络合物，可用于荧光检测。 $\lambda_{ex}375\text{nm}$ ， $\lambda_{em}470—500\text{nm}$ 。

原理及操作手续见铝的荧光检测。

13. 二水杨叉乙二胺法⁽³⁸⁾。

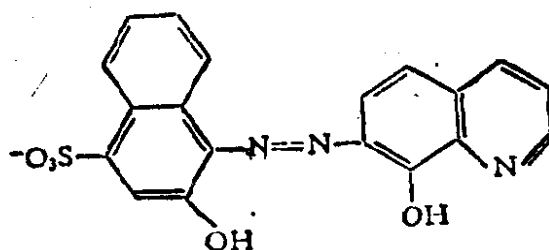
试剂结构:



它与镁离子在二甲基甲酰胺中形成1:1络合物, 在紫外光照射下会发生亮蓝色荧光, 能检测0.17ppb镁, 荧光峰439nm。水的存在将使荧光强度急剧下降, 铍、锌、铟等离子与此试剂所生成的化合物也会发生荧光。

14. 1-(8-羟基喹啉-7-偶氮)-2-萘酚-4-磺酸法⁽³⁹⁾。

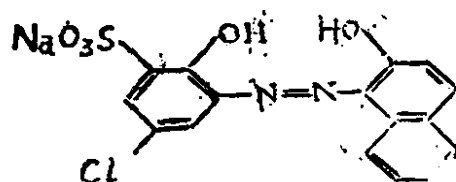
试剂结构:



它在PH=11时, 能与镁离子络合, 所生成的化合物在紫外光照射下会发生淡红色荧光。此法灵敏度为0.01ppm。铝离子和这一试剂在微酸性溶液(PH=6-6.5)中也会发生淡红色荧光。

15. 1-(2-羟基-3-磺酸-5-氯苯偶氮)-2'-羟基萘法⁽⁴⁰⁾。

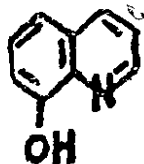
试剂结构:



它能与镁离子络合而用以荧光检测。能检测0.020PPm镁。

16. 8-羟基喹啉法⁽⁴¹⁾。

试剂结构：



在PH6.5时, 镁离子—8-羟基喹啉醇溶液熄灭荧光。 $\lambda_{ex}420\text{nm}$, $\lambda_{em}530\text{nm}$ 。
方法灵敏度可达到0.01ppm。

17. 荧烷法⁽⁴²⁾。

此法可用于尿中镁的检测, 灵敏度可达到0.01ppm。

三、钙的荧光分析

(一) 概述。

钙的荧光分析的主要试剂是钙黄绿素, 它在碱性条件下能与钙离子络合, 产物在紫外光照射下会发生蓝绿色荧光。此法可检测样品中的钙, 灵敏度可达0.2ppm。此法也可作钙离子的定性点滴试验, 操作时将含有钙离子的试液滴在滤纸上, 然后滴上试剂, 稍干后点上碱液, 在紫外线灯下观察, 可看到黄绿色荧光斑点。

钙的荧光试剂还有1,5-双(二羧甲基氨基甲基)-2,6-二羟基萘, 1,5-二(二羧甲基)-2,6-二羟基萘, 3-羟基-2-萘甲酸, 8-羟基喹啉, 8-羟基喹啉脒, 姜黄, 荧光酮和氯四环素等, 但灵敏度均不太高。

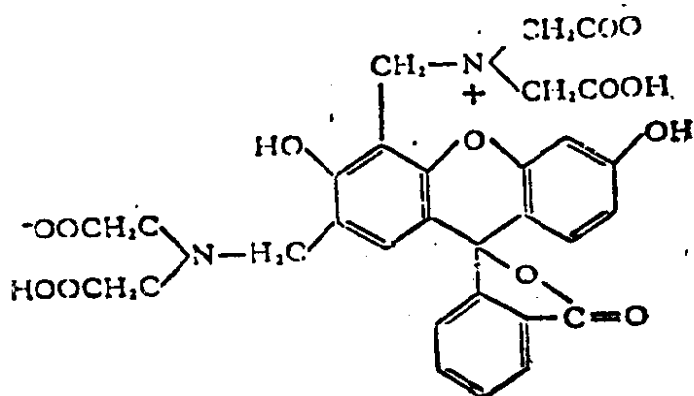
各种钙的荧光分析法检测灵敏度为：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
钙黄绿素	荧光络合物	0.2
姜黄素	荧光指示剂	2.0
荧光酮	荧光络合物	1.0
8-羟基喹啉	荧光络合物	1.0
8-羟基喹啉脒	荧光络合物	0.2
1,5-双(二羧甲基氨基甲基)-2,6-二羟基萘	荧光络合物	0.02
1,5-二(二羧甲基)-2,6-二羟基萘	荧光络合物	0.2
3-羟基-2-萘甲酸	荧光络合物	1.0

(二) 分析方法.

1. 钙黄绿素法⁽⁴³⁾.

试剂由荧光素、甲醛和亚氨乙酸缩合而成，学名：3,6—二羟基—2,4—双〔N,N'—二(羧甲基)—氮甲基〕—芴烷，其结构为：

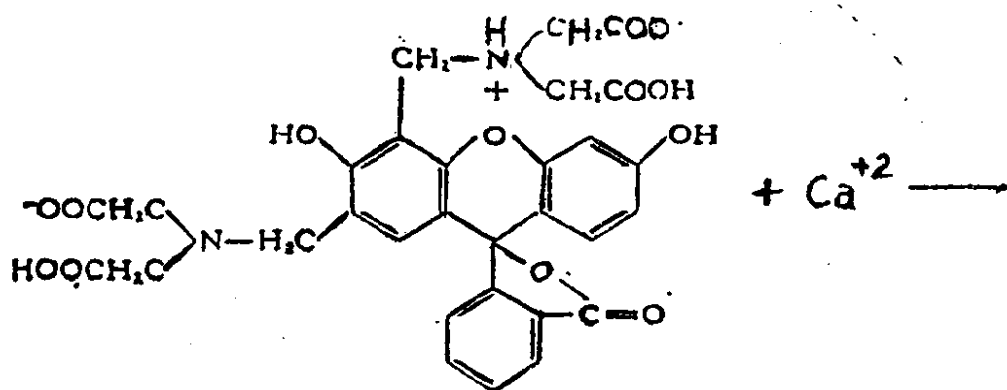


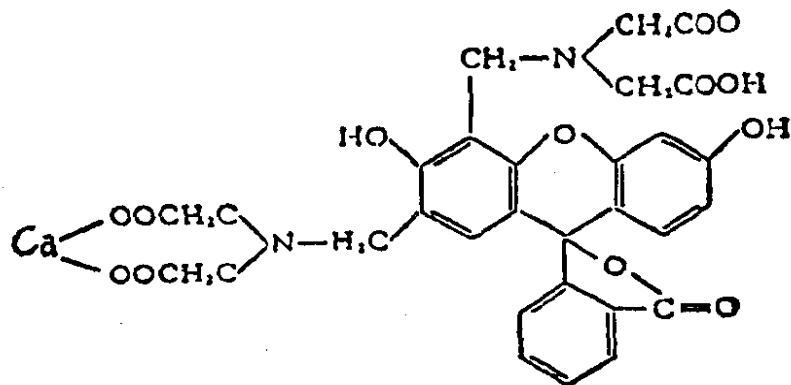
它是检测钙的良好试剂，能与二价钙离子的络合物在紫外光照射下会发生蓝绿色荧光。灵敏度可达0.2ppm。

血清中钙的检测方法：

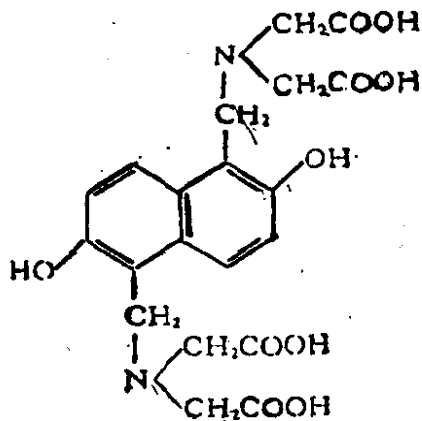
在5毫升2N氢氧化钾中，加入20毫升样品，然后加入含6微克试剂的聚丙烯乙二醇溶液1毫升并稀释至25毫升，作荧光读数。 $\lambda_{ex}405nm$, $\lambda_{em}485nm$, 或 $\lambda_{ex}436nm$, $\lambda_{em}517nm$ 。

钙与试剂的反应式如下：





2. 1,5—双(二羧甲基氨基甲基)—2,6—二羟基萘法⁽⁴⁴⁾。
试剂结构:



它与钙能形为2:1络合物, 在PH11.7时荧光达最大值, 生成的络合物在高PH下不稳定, 必须在5分钟内作荧光读数。此法检测范围为0.0004—0.02微克钙/毫升, 在使用8—羟基喹啉氯仿萃取及加入氰化钾掩蔽剂的情况下, 只有镁、镉及钡离子有干扰。

操作手续:

将含有10—500ng钙的样品溶液调节PH=6, 用8—羟基喹啉氯仿溶液分三次, 每次10毫升萃取以除去三价离子, 用氯仿分两次, 每次20毫升洗水相以除去生成的8—羟基喹啉络合物。加入5毫升0.01M氰化钾和0.5毫升氢氧化钠。再加入5毫升 $5 \times 10^{-6}M$ 试剂并稀释至25毫升, 精确放置5分钟后读数。 λ_{ex} 385nm, λ_{em} 445nm。

3. 1,5-二(二羧甲基)-2,6-二羟基萘法⁽⁴⁵⁾。

钙与试剂形成2:1荧光络合物,操作方法同上。试剂也和铝及铍形成荧光络合物。

4. 8-喹啉基脲法⁽⁴⁶⁾。

在PH11—13范围内,试剂与钙反应生成荧光络合物,此法检测灵敏度为0.2ppm。

操作手续:

在5毫升0.1N氢氧化钾中溶解1克样品,加入0.25毫升0.02%试剂溶液。放置20分钟后作荧光测量。 $\lambda_{ex}420nm$, $\lambda_{em}510nm$ 。钠和锂有干扰。

5. 3-羟基-2-萘甲酸法⁽⁴⁷⁾。

钙与试剂在1—5N氢氧化铵中生成1:1络合物, $\lambda_{ex}375nm$, $\lambda_{em}470—500nm$ 。试剂的强碱溶液在500nm处也有荧光。绝大多数干扰能被掩蔽,但磷酸盐必须除去。

6. 8-羟基喹啉法⁽⁴⁸⁾。

在氨溶液中,钙与试剂反应产生很亮的荧光,试剂与镁也有反应,但不与锶和钡反应。

7. 其它方法。

姜黄法⁽⁴⁹⁾。试剂与钙的络合物,会发生黄绿色荧光,可检测至2PPm。

荧光酮法⁽⁵⁰⁾。试剂与钙生成荧光化合物,能用于络合滴定,检测灵敏度为1.0ppm,

8-〔二(羧甲基)氨基〕-7-羟基-2-甲基-异黄酮法⁽⁵¹⁾在PH=13时,试剂与钙形成络合物,可用于荧光检测。 $\lambda_{ex}339nm$, $\lambda_{em}441nm$ 。镁影响小,但钡和锶有干扰。

氯四环素⁽⁵²⁾法。可用于荧光测定钙,化合物在碱性溶液中稳定。

荧光素络合物法⁽⁵³⁾。反应类似钙黄绿素法。

四、锶的荧光分析

荧光酮法⁽⁵⁴⁾。

试剂可作锶的荧光络合滴定试剂，可检测80.0ppm锶。其它碱土金属有干扰。

五、钡的荧光分析

1. 姜黄法⁽⁵⁵⁾。

钡能在荧光吸收指示剂姜黄存在下，以BaSiF₆的沉淀形式而被检测。在沉淀上吸收的指示剂显棕色荧光，检测限度至1:20,000。

用同样的试剂，在碱性醇—水溶液中，能与镁，钙和锶生成黄绿色荧光。

2. 荧光酮法⁽⁵⁶⁾。

荧光酮是一个络合滴定指示剂，能于强碱溶液中在镁的存在下络合滴定钙、锶和钡，此试剂也能用于这些元素的荧光检测。此法灵敏度为80.0ppm。

参考文献：

1. C. E. White and C. S. Lowe, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 13, 809(1941). M. H. Fletcher, C. E. white, and M. S. Sheftel, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 18, 179(1946).
2. *ibid.*, 18, 179(1946).
3. Mary H. Fletcher, *Anal. Chem.*, 37, 550—557 (1965).
4. E. A. Morgan, N. A. Vlasov, and A. Z. Serykh, *zh. Prikl. khim, Leninger.* 43, 2744—2745(1970).

5. D. P. Shcherbor and T. N. Plotnikova, *Zavod. lab.*, 27, 1058—1062(1961).
6. R. N. Plotnikova, R. P. Ashaeva, and D. P. Shcherbov, *ibid*, 32, 1063(1966).
7. W. Rutkowski, *Chem. Anal. (warsaw)* 8, 389—394(1963).
8. M. S. Bykhovskaya, *Gig. T. Prof. Zabol.* 5(11), 55—57(1961).
9. S. R. Desai and kum. k. Sudhalatha, *Talanta*, 14, 1346—1349(1967).
10. B. Budesinsky and T. S. west, *Anal. Chim. Acta*, 42, 455(1968).
11. T. Naito, H. Nagano, and T. Yosui, *Japan Analst.* 18, 1068(1969).
12. Gordon F. Kirkbright, T. S. West and Colim Woodward, *Anal. Chem.*, 37, 137—143(1965).
13. A. I. Cherkesov and T. S. Zhigalkina, *Zavod. Lab.*, 27, 658—659(1961).
14. Takushi Ito and Akiva Murata, *Jap. Anal.* 20, 235—340, 1422—1427(1971).
15. F. Capitan Garcia, F. Salinas and L. M. Franguelo, *Anal. letl.* 8, 753(1975).
16. N. M. Alykor and A. I. Cherkesov, *Zh. Anal. khim.*, 31, 1104(1976).
17. L. kabrt and Z. Hobbecher, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 41, 540(1976).
18. A. Guiraum and J. L. Vilchez, *Quin. Anal.*, 29, 265—271(1975).

19. K. Molojnia, *Bull. Chem. Soc. Japan.*, 29, 75 (1956).
20. 郑朱梓, 王尊本, 林美丽《中国化学会分析化学学术会议论文摘要集》90页, (1964).
21. G. G. Guilbault, M. H. sadar, M. Z. immer, *Anal. Chim. Acta*, 44, 361, (1969).
22. Z. Holzbecher, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 20, 193(1955).
23. C. E. white, *J. Chem. Educ.*, 28, 369(1951).
24. Kiyotoshi Moriura, *Anal. Chim. Acta.*, 73, 245—254(1974).
25. T. S. West, "chemical Spectrophotometry in Trace Characterization"(1967).
26. G. Gusev, *Lab. Delv*, no. 3, 157(1968).
27. R. M. Dagnall, R. Smith and T. S. west, *Analyst*, 92, 20(1967).
28. Rodney Olsen and Harrey Diehl, *Anal. Chem.*, 43, 1142—1144(1963).
29. S. Zepf., *Clin. Chim. Acta*, 20, 473—478(1968).
30. Tokishi Hayashi, Satoshi kawai and Takeo ohno, *Chem. pharm. Bull.*, (Tokyo)21, 1147—1151(1973).
31. V. Patrovsky, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 32, 2656—2660(1967); *Z. Anal. Chem.*, 230, 355—356(1967).
32. G. V. Serebryakova, A. M. Lukin and E. A. Bozhevol'nov, *Zh. Anal. Khim.*, 18, 706—711(1963).
33. Anna korkue and katarzyna lesz, *Chem. An-*

- al., 17, 855—858(1972).
34. Tokishi Hayashi, Satoshi kawai and Takeo,
Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 18, 2407—2413
(1970).
 35. 陈国珍, 《荧光分析法》, p.133—134(1975).
 36. Cf. G. Gusev, Lab. Delv, no. 8, 157(1968).
 37. Krzysztor Kasiura, Chem. Anal., 20, 389—395
(1975).
 38. C. E. white and F. Cuttitta, Anal. Chem., 31,
2083(1959).
 39. A. Badrinias, Talanta, 10, 704(1963).
 40. E. A. Bozhevov, nov, Oesterr. Chem. Ztg., 66,
74(1965); Chem. abster., 65, 7989(1966).
 41. D. Schachter, J. Lab. Chin. Med., 54, 763(1959);
58, 495(1961); J. B. Hill, Ann. N. Y. Acad. Sci.,
102, 1(1962); B. Klein and M. Oklander, Clin.
Chem., 13, 26(1967); R. E. Thiers, in Standard
Methods of Clinical Chemistry (S. Meites,
ed.), Vol. 5, Academic press, New York, 1965.
p. 131.
 42. D. Wallach, chem. Listy, 50, 77(1956); J. B. Hill,
Clin. Chem., 11, 122(1965).
 43. Barbara L. Kepner, and David M. Hercules,
Anal. Chem., 35, 1238—1240(1963); 40, 339(1968);
M. Lewin, M. wills and D. Baron, J. Clin. pa-
thol., 22, 222(1969).
 44. D. Budesinsky and T. S. West, Talanta, 16,
399—406(1969),

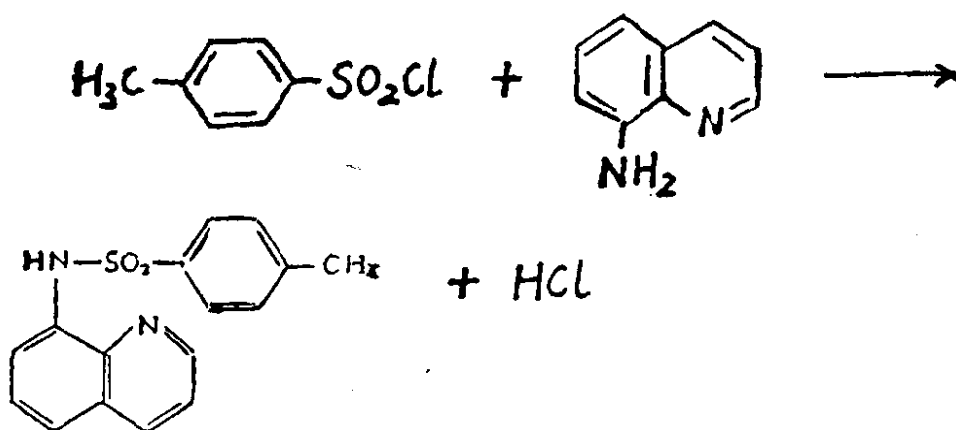
45. B. Budesinsky and T. S. West, *Talanta*, 16, 399—406(1969).
46. C. Miller and R. Magee, *J. Chem. Soc.*, 3183 (1951).
47. krzysztof kasiura, *Chem. Anal.*, 20, 389—395 (1975).
48. E. A. Bozhevolnov, L. Federova, I. Krasavin and V. Dziomko, *zh. Anal. khim.*, 24, 531(1969).
49. P. Dancknortt and J. Eisenbrand, *Lumineszenzanalyse in fillrtierten ultravioletten Licht*, Leipzig, 1956.
50. Y. wilkins, *Talanta*, 4, 80(1960).
51. Geraldine M. Huitink, *Anal. Chim. Acta*, 70, 311—317(1974).
52. Korkina, L. G.; Sorokovol, V. I., Vladimrov, Y. A, *Stud. Biophys.*, 39 (3), 177—92, 1973.
53. W. Mische, E. Schroeder, and K. Thinius, *plaste kautsch*, 16, 23—25(1969).
54. Y. korbl and F. Vydra, *chem. Listy*, 51, 1457 (1957); Y. Wilkins, *Talanta*, 4, 80(1960).
55. H. Goto, *Sci. Rept. Tohoku Imp. Univ, Ser. 1*, 29, 204(1940); P. Dancknortt and J. Eisenbrand, *Lumineszenzanalyse in filtrtierten ultravioletten Licht*, Leipzig, 1956.
56. Y. korbl and F. vydra, *Chem. Listy*, 51, 1457 (1957); Y. Wilkins, *Talanta*, 4, 80(1960).

第四节 锌、镉、汞的荧光分析

一、锌的荧光分析

(一) 概述。

锌的荧光分析方法较多，比较有效的试剂是8—(甲苯—对—磺酰氨基)喹啉(简称QTS)。它是由对甲苯磺酰氯和8—氨基喹啉反应生成。



其碱性溶液，在紫外光照射下会发生弱的浅蓝色荧光。当锌离子存在时，荧光由浅蓝色转为绿色。溶液的PH为8.0—8.3时，锌离子和QTS生成的络合物的荧光强度最大，且可保持25—30小时不变。此法可用于铁矿及二氧化钛中锌的测定。

锌的其它荧光试剂，有8—羟基喹啉、2，2'—亚甲基二苯并噻唑、2—(2—吡啶基)苯并咪唑、8—磺酰胺基喹啉、羧甲基—8—羟基喹啉、4—水杨叉氨基苯并噻唑、罗丹明B、β—水杨叉氨基乙醇、BAQH、皮考林醛—2—喹啉基脒、甲基—N—(水杨叉氨基)二硫代氨基甲酸酯及安息香、荧光铜铁灵、1，1，3—三氰基—2—氨基—1—丙烯、苯并噻唑甲烷及四溴荧光素+1，10—菲绕啉等。

锌的各种荧光分析法的灵敏度比较如下:

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
8-羟基喹啉	荧光络合物	1.0
2,2'-亚甲基二苯并噻唑	荧光络合物	0.05
QTS	荧光络合物	1.0
2-(2-吡啶基)苯并咪唑	荧光络合物	0.001
8-苯磺酰胺基喹啉	荧光络合物	1.0
羧甲基-8-羟基喹啉	荧光络合物	1.0
4-水杨叉氨基苯并噻唑	荧光络合物	0.1
罗丹明B	三元络合物	0.2
β -水杨叉氨基乙醇	荧光络合物	1.00
BAQH	荧光络合物	0.001
皮考琳醛-2-喹啉基踪	荧光络合物	0.003
甲基-N-(水杨叉氨基)二硫代氨基甲酸酯	荧光络合物	5.0
安息香	荧光络合物	0.5
荧光铜铁灵	荧光络合物	0.2
1,1,3-三氰基-2-氨基-1-丙烯	荧光络合物	0.02
苯并噻唑甲烷	荧光络合物	0.002
四溴荧光素+1,10-菲绕啉	三元络合物	1.0

(二) 分析方法。

1. 8-羟基喹啉法⁽¹⁾。

在中性或醋酸溶液中, 锌离子与试剂的反应产物, 在紫外光照射下会发生黄色荧光, 虽然所得到的是浑浊液, 但只要把溶液

温度、试剂用量、混合程序及静置时间等控制得适宜，还可以得到良好的重现性，此法测定范围1—12微克/毫升。镉、铍、镁、钙、铝、锆等离子与该试剂所生成的浑浊液同样会发生荧光。

血清或尿样品中锌的测定：

缓冲溶液的配制：在1升水中溶解19.428克醋酸钠和29.428克巴比通钠。取此溶液50毫升，加入20毫升85%氯化钠溶液和约45毫升0.1N盐酸调节PH到7.5—8。

将1毫升血清或尿与5毫升2N醋酸铵，2毫升现过滤的2%阿拉伯树胶溶液和25毫升缓冲溶液混合。再加入0.2毫升3%试剂乙醇溶液，并用缓冲溶液稀释至50毫升，作荧光读数。 $\lambda_{ex}375\text{nm}$ ， $\lambda_{em}517\text{nm}$ 。

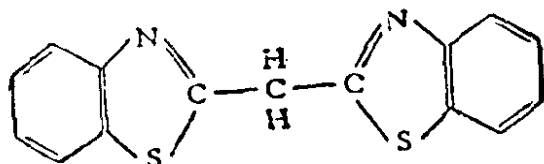
此法灵敏度为10ppm。

卜特兰水泥中锌的测定⁽²⁾：

在盐酸中溶解0.25克样品，加入1克氯化铵，用等量水稀释并加入1毫升2%试剂的1:1盐酸溶液，用氨水调节PH=8，用氯仿萃取生成的络合物，作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$ ， $\lambda_{em}520\text{nm}$ 。铝用抗坏血酸掩蔽，亚铁离子用1,10-菲绕啉，钡和镉用硫代硫酸钠掩蔽。

2. 2, 2'-亚甲基二苯并噻唑法⁽³⁾。

试剂结构：



它由邻氨基苯硫酚和丙二酸缩合而成，是一种较好的荧光分析试剂。它和锌离子生成的化合物，在紫外光或阳光照射下会发生蓝

色荧光。 $\lambda_{ex}410nm$, $\lambda_{em}450nm$ 。

此法测定范围为0.05—50微克锌/毫升。镉量为锌量二万倍时对锌的测定并不干扰。此法可用于镉盐及非铁合金中锌的测定。

镉盐中锌的测定:

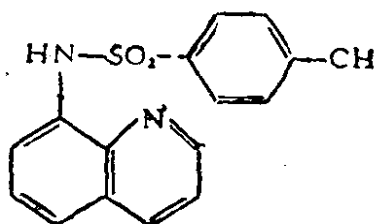
在含有0.1—5微克锌的2毫升样品溶液中,加入1毫升0.3N氢氧化钾和7毫升0.1mM的试剂乙醇溶液,然后作荧光检测。 $\lambda_{ex}412nm$, $\lambda_{em}450nm$ 。此法灵敏性较高,可检测2 ppb锌。

非铁合金中锌的测定:

移取非铁合金试样0.35克,溶于5毫升浓盐酸中,在蒸汽浴上蒸干,将残渣溶于水,转移至100毫升容量瓶中,稀释至刻度。取出1毫升,加入1毫升氯化钠溶液(0.2克/毫升),1毫升醋酸盐缓冲溶液,7毫升 $10^{-3}M$ 试剂乙醇溶液,混匀后测荧光强度。 $\lambda_{ex}365nm$, $\lambda_{em}450nm$

3. 8-对甲苯磺酰氨基喹啉(QTS)法⁽⁴⁾。

试剂结构



它与锌在氯仿中生成荧光络合物, $\lambda_{ex}265nm$, 或 $370nm$, $\lambda_{em}500nm$ 。遵守比尔定律浓度范围为1—100 μM , 铝和铜有干扰。

赤铁矿中锌的测定(5):

在3毫升盐酸和1毫升硝酸中溶解含锌量不少于0.001%的

样品0.1克。加入10毫升1 : 1 硫酸并蒸至三氧化硫冒烟。加入20毫升水，过滤，并将滤液蒸至约20毫升，冷却，加入20毫升50% 硫代氰酸铵溶液，小心加入氟化铵晶体至颜色消失。用20毫升异丙醇萃取，这时萃取液中含锌和铜，一些镉、钴和镍，但没有铁。用20毫升10% 硫代氰酸铵（每升中含3毫升硫酸）洗有机相以除去铜、镉、钴和镍。然后用20毫升5.4% 氯化铵的1 : 9 氢氧化铵溶液反萃取锌，沸腾除去氨和溶解的丙醇，冷却，并稀释至25毫升，取此液2.5毫升整，与2.5mlPH=8 的硼酸—四硼酸钠缓冲液和0.2毫升0.01% 试剂乙醇液混合，十分钟后读数。 λ_{ex} 265nm或370nm, λ_{em} 505nm。

二氧化钛中锌的测定⁽⁶⁾：

PH8.1—8.3缓冲溶液的配制：在一升水中溶解7.6克甘氨酸和5.85克氯化钠，并加入30毫升0.4% 氢氧化钠溶液。

用10毫升硫酸和5克硫酸铵与0.25克样品一起加热溶解，冷却，加入10毫升15% 氟化铵溶液，用10毫升50% 酒石酸溶液掩蔽钛和铁，并用1 : 3 氨水中和至石蕊成中性色。加入10毫升15% 硫氰酸铵溶液和2毫升的吡啶，用20毫升异成醇萃取5分钟，再用每500毫升水中含有27克氯化铵和50毫升1 : 3 氨水的溶液20毫升从有机相中反萃取锌20秒钟。将萃取液沸腾3分钟并冷却。如锌含量少于0.02% 则稀至25毫升；如锌含量为0.02—0.08%，则稀至100毫升；如锌含量高，则稀至200毫升。取此溶液2.5毫升与2.5毫升PH8.1—8.3的缓冲溶液混合，再加入0.2毫升0.01% QTS溶液，10分钟后作荧光读数。 λ_{ex} 265nm或370nm, λ_{em} 505nm。

此法灵敏度为1—100 μ M。

铁矿中锌的分析⁽¹³⁾：

用王水分解0.1克样品，与10毫升1 : 1 硫酸一起蒸发，用水稀释至20毫升，过滤，加入20毫升50% 硫氰酸铵溶液，然后

加入固体氯化铵直至暗红色变成亮黄色。用20毫升异戊醇萃取。用20毫升10%硫氰酸铵(用硫酸酸化)洗有机相。用20毫升5.4%氯化铵的1:9氨水溶液反萃取锌,煮沸除去氨和有机溶剂并稀释至25毫升。取此溶液2.5毫升整,加入2.5毫升PH=8的硼酸盐缓冲溶液和0.2毫升试剂。放置并作荧光读数。

4. 2-(2-吡啶基)苯并咪唑法⁽⁷⁾。

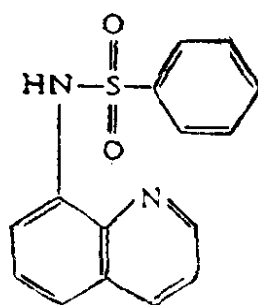
在预先除去干扰的情况下,此试剂可作锌的荧光分析,可检测至ng数量级。除镓或铟外,加入10%磷酸二氢钠可沉淀除去绝大多数的干扰离子。镓或铟的苯甲酸盐可用乙酸乙酯萃取除去。钴、铈、铜、铁、汞、镍、铂、钯、银、钼酸根和硫酸根等离子熄灭荧光,镉能增强荧光。

操作手续:

在4毫升样品溶液中(锌的含量约为15—800ng/ml),加入0.5毫升PH=5.8的醋酸钠—醋酸缓冲溶液和0.5毫升0.0001M试剂乙醇溶液,然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}330nm$, $\lambda_{em}398nm$ 。以本底作参照,灵敏度为ng。

5. 8-苯磺酰胺基喹啉法⁽⁸⁾。

试剂结构



它与锌络合生成荧光化合物而用于检测。

人体皮肤中锌的分析:

将样品与5毫升硫酸,10毫升过氯酸和15毫升硝酸一起加热

直至无色，蒸发至干，并取出放至40毫升热水中。取此溶液2.5毫升整，加入2.5毫升甘氨酸缓冲剂（PH8—8.3），再加入2.5毫升0.01%试剂丙铜溶液，静置15分钟后读数。

6. 羧甲基—8—羟基喹啉法⁽⁹⁾。

试剂与锌生成荧光络合物而用于荧光检测。

操作手续

将0.5毫升样品与0.5毫升0.5mM试剂混合，然后加入1.5毫升0.25MPH3.7的醋酸钠—盐酸缓冲溶液和7.5毫升甲醇。放置15分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}316nm$, $\lambda_{em}416nm$ 。

7. 4—水杨叉氨基苯并噻唑法⁽¹⁰⁾。

试剂与锌络合成荧光产物而用于检测。

操作手续

将10毫升含有3.3—0.88微克锌的样品溶液调节PH至8.6，用10毫升0.05mM的试剂异戊醇溶液萃取然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}428nm$, $\lambda_{em}505nm$ 。

遵守比尔定律浓度范围：5mM—1.6 μ M。镉和镁有干扰。

8. 罗丹明B法⁽¹¹⁾。

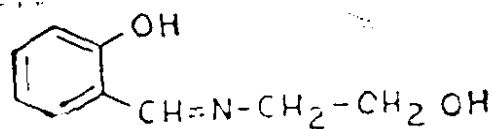
试剂与锌、硫氰酸根可形成Zn(II)—罗丹明B—SCN—三元络合物，可用乙醚萃取作荧光检测。萃取液在紫外光照射下发黄绿色荧光， $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}580nm$ 。

操作时，最佳PH是3.5—5，硫氰酸盐的最佳浓度是0.05—2M。

此法测定范围为0.2—5微克锌/毫升。铁、钼、钨，氟、碘和硝酸根离子有干扰。

9. β —水杨叉氨基乙醇(SAE)法⁽¹²⁾。

试剂结构：



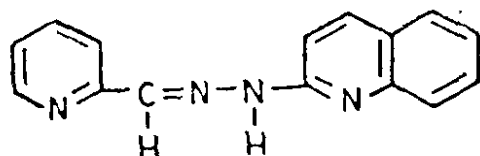
它与锌离子在 $\text{PH}=5.6$ 的缓冲溶液中生成螯合物，在紫外光照射下会发生强烈荧光。 $\lambda_{\text{ex}}375\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}440\text{nm}$ 。此法测定范围为 $0.032-0.32$ 微克/毫升。铜、镍、铁、锡、铝、铍和磷酸根有严重干扰，必须预先分离。

10. 苯并咪唑—2—乙醛—喹啉脒 (BAQH) 法⁽¹⁴⁾。

试剂与锌离子组成的化合物，在阳光照射下会发生强烈的荧光。 $\lambda_{\text{ex}}470\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}520\text{nm}$ 。此法可检测低于 1ppb 的锌。

11. 皮考琳醛—2—喹啉基脒法⁽¹⁵⁾。

试剂结构，



它与锌反应生成荧光化合物，可检测锌至 26ppb 。

12. 甲基—N—(水杨叉氨基)二硫代氨基甲酸酯法⁽¹⁶⁾。

试剂与锌生成荧光络合物，在 $\text{PH}=10$ 的氢氧化铵—氯化铵缓冲溶液中或在 50% 的二甲基甲酰胺中读数。 $\lambda_{\text{ex}}330\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}460\text{nm}$ 。

此法灵敏度为 5 微克锌/毫升。此法也可用于镉的测定。

13. 其它方法。

安息香法⁽¹⁷⁾。试剂与锌离子在碱性溶液中生成的化合物，在紫外光照射下会发生绿色荧光，荧光峰 $465-570\text{nm}$ 。可检测至低于 0.5ppm 的锌。铍、硼、铈元素有干扰。

荧光铜铁灵法⁽¹⁸⁾。试剂与锌反应生成强的亮绿色荧光，可检测至低于0.2ppm的锌。

1, 1, 3—三氰基—2—氨基—1—丙烯法⁽¹⁹⁾。此法灵敏度为每毫升0.02微克。

苯并噻唑甲烷法⁽²⁰⁾。此法的灵敏度为每毫升0.002微克。

四溴荧光素及1, 10—菲绕啉法(21)。锌与试剂形成Zn(II)—四溴荧光素—1, 10—菲绕啉三元络合物，在PH=9时用氯仿萃取，加丙酮至萃取物中，作荧光读数。 $\lambda_{ex}540nm$, $\lambda_{em}580nm$ 。此法检测范围为1.0—10 $\mu g/10ml$ 。许多阳离子有干扰。

二、镉的荧光分析

(一) 概述。

镉的荧光试剂中，较重要的是噻啉衍生物。如：8—羟基噻啉、QTS、8—(苯磺酰胺)噻啉、8—羟基噻啉—5—磺酸、7—碘—8—羟基噻啉—5—磺酸(铁试剂)等。它们与镉生成的络合物，在紫外线照射下会发生黄绿荧光。

3, 5'—双〔双(羧甲基)氨基甲基〕—4, 4'—二羟基—反—均苯代乙烯(BDDS)与镉离子在微碱性溶液中能络合成发荧光的化合物，其激发峰在360nm，荧光峰在440nm。方法的检测灵敏度为0.02—1微克镉/毫升。^{*}

在50%二甲基甲酰胺中，2—羟基—1—萘醛和氨基羧酸—4—氯苄可缩合生成荧光产物，激发峰470nm，荧光峰520nm。加入镉离子后，能与试剂络合，从而减弱荧光。由此可检测镉，灵敏度为0.1—1.1ppm。

镉还可与曙红和1, 10—菲绕啉生成三元络合物，用氯仿萃取后用于荧光读数。曙红可用碘曙红或四碘荧光素代替。当用氯仿

萃取时，加入丙酮可增强荧光。

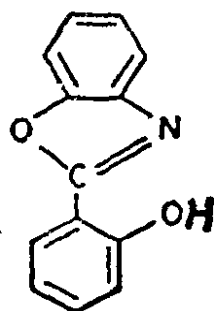
各种镉的荧光分析法比较如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
2-(2'-羟苯基)一苯并噻唑	荧光络合物	2
8-羟基喹啉	荧光络合物	2
桑色素	荧光络合物	2
8-(甲苯-对-磺酰氨基)喹啉	荧光络合物	0.02
3,5'-双[双-(羧甲基)氨基]-4,4'-二羟基一反一均苯代乙烯BDPS	荧光络合物	0.02
曙红+1,10-菲绕啉	三元络合物	0.05
2-羟基-1-萘醛+氨荒酸-4-氯苄	荧光熄灭	0.1
8-羟基喹啉-5-磺酸	荧光络合物	0.01
8-喹啉基二氢磷酸盐	荧光络合物	1
铁 试 剂	荧光络合物	0.1
8-(苯磺酰胺)喹啉	荧光络合物	0.001
乙二醛的双-(4-羟苯胺)	荧光络合物	50

(二) 分析方法。

1. 2-(2'-羟苯基)一苯并噻唑法⁽²²⁾。

试剂结构：



它在氨溶液中与镉离子反应，形成一种难溶的螯合物。这种螯合物可溶于冰醋酸中，所得的溶液在紫外光照射下会发生亮蓝色荧光。

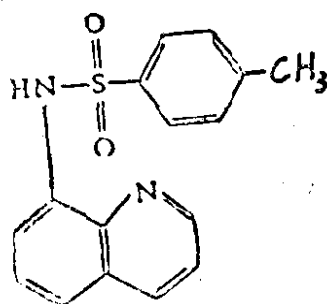
操作时，可先让镉离子与该试剂的乙醇溶液在 $\text{PH} = 11$ 的 1 : 1 乙醇溶液中形成沉淀，过滤，洗涤，烘干。然后将产物溶于冰醋酸中，测量冰醋酸溶液的荧光强度。 $\lambda_{\text{ex}} 365 \text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}} 430 \text{nm}$ 。

此法测定范围为 2—40 微克/毫升。

凡能与试剂形成沉淀的金属离子，如铜、钴、镍等，对本法均有干扰，须加以分离。

2. 对一甲苯磺酰胺基—8—氨基喹啉 (QTS) 法⁽²³⁾。

试剂结构：



它能与镉在 $\text{PH} 8.0—8.3$ 时形成络合物，在紫外线照射下产生绿色荧光。

操作时，将镉离子溶液与 $\text{PH} 8.0—8.3$ 的缓冲溶液混合，再加入试剂丙铜溶液，混匀作荧光测量。 $\lambda_{\text{ex}} 265 \text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}} 500 \text{nm}$ 。

锌、铝等离子有干扰。

此法可用于点滴分析检测镉，操作时手续如下：将被测镉离子溶液滴一滴于定量滤纸上，然后喷洒试剂丙铜溶液，稍干后喷洒 $\text{PH} 8.0—8.3$ 的缓冲溶液。将滤纸置于紫外线灯下观察，斑

点呈现绿色荧光。

3. 3,5'—双〔双—(羧甲基)氨基甲基〕—4,4'—二羟基—反—均苯代乙烯(BDPS)法⁽²⁴⁾。

在与绝大多数其它阳离子分离后,此试剂能用于荧光检测镉离子。

操作手续:

将含有0.0005—0.025毫克镉离子样品溶液移入分液漏斗中,加入5毫升20%酒石酸钾钠溶液,混合。加入氢氧化铵至PH \parallel 11.0 \pm 1.0。然后加入2克氰化钾和1毫升0.2%二乙基二硫代氨基甲酸钠溶液和10毫升四氯化碳加盖摇荡1分钟,弃去水相,用40毫升水分两次洗涤四氯化碳层,弃去水洗液。用10毫升0.2N盐酸从有机层中反萃取镉。用氢氧化铵将酸性萃取液中和至PH=7。再加入5毫升1M的优洛托品溶液,5毫升0.1mM试剂并用水稀至25毫升,作荧光读数。 λ_{ex} 360nm, λ_{em} 440nm。

此法测定范围为0.02—1微克镉/毫升。

锌、钇、镧、铅等离子有干扰。

4. 1,10—菲绕啉和曙红法⁽²⁵⁾。

镉与试剂生成三元络合物,可被萃取而用于荧光检测。

操作手续:

将含有0.05—1微克镉离子的中性样品溶液与1毫升PH=9的磷酸盐缓冲溶液,1毫升0.2%1,10—菲绕啉和0.2毫升0.1%曙红溶液混合,稀释至10毫升,用6毫升氯仿萃取1分钟。然后分离出萃取剂用于荧光读数。 λ_{ex} 540nm, λ_{em} 570nm。

曙红可用碘曙红或四碘荧光素代替,最佳PH为8—8.5。当用氯仿萃取时,加入丙铜可增强荧光。

钡、银、锌、锗、镍和铁离子有干扰。

5. 2—羟基—1—萘醛和氨基脲—4—氯苄法⁽²⁶⁾。

在50%二甲基甲酰胺中，2-羟基-1-萘醛和氨基磺酸-4-氯苄可缩合生成荧光产物， $\lambda_{ex}470\text{nm}$ ， $\lambda_{em}520\text{nm}$ 。加入镉离子后，能与试剂络合，从而减弱荧光。由此可荧光检测镉，灵敏度为0.1—1.1ppm。

铜离子和钴离子有类似反应，因此必须避免它们的存在。银、镍和锌也有干扰。

6. 8-羟基喹啉-5-磺酸法⁽²⁷⁾。

试剂与镉离子在PH7.1—8.5溶液中生成络合物，在紫外线照射下产生黄绿色荧光。

操作手续：

将含有0.01—2微克镉离子的样品溶液，用氢氧化铵—氯化铵缓冲溶液调节PH至7.1—8.5。加入4毫升0.003%试剂溶液并稀释至10毫升，作荧光读数。荧光峰520nm。

锌有相同的荧光峰，因此有干扰。

7. 8-喹啉基二氢磷酸盐或羧甲基-8-羟基喹啉法⁽³⁸⁾。

镉与试剂能形成络合物而用于荧光测定。

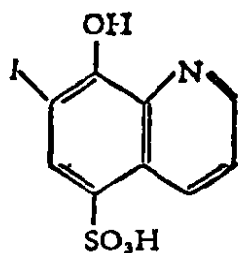
操作手续：

将0.5毫升样品溶液与0.5毫升试剂溶液混合，加入1.5毫升mMPH=9.16的Tris—盐酸缓冲溶液和7.5毫升甲醇。静置30分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}316\text{nm}$ ， $\lambda_{em}440\text{nm}$ 。

用没加入镉离子的硫酸奎宁作标准荧光物。

8. 铁试剂（7-碘-8-羟基喹啉-5-磺酸）法⁽²⁹⁾。

试剂结构：



它与镉离子在PH6.8—9.0的溶液中生成的络合物，在紫外光照射下会发生黄绿色荧光。

操作方法：

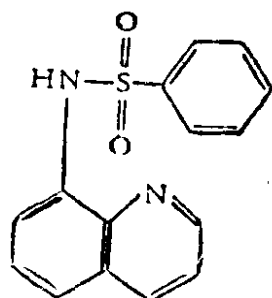
移取含有5—100微克镉的试样溶液，加入3毫升1N硫酸及3毫升1N碘化钾溶液，加水至约30毫升，让其通过预先用碘化钾溶液处理过的阴离子交换柱（强碱型阴离子交换树脂，200筛目，柱高4厘米，内径0.7厘米）。用30毫升0.1N碘化钾溶液分四次淋洗，继用5—7毫升水淋洗，弃去淋洗液，然后用30毫升2N硝酸解吸，将解吸液蒸干，用水溶解，并转移至50毫升的容量瓶中。加入2毫升磷酸二氢钾—氢氧化钠缓冲液（PH=7.4）和1毫升0.2%铁试剂水溶液，稀至刻度，摇匀，作荧光读数。 $\lambda_{ex}365nm$ ， $\lambda_{em}524nm$ 。

此法测定范围为0.1—2微克镉/毫升。

锌、铝、镁、铜、钴、镍等离子有干扰。但在加入稀硫酸—碘化钾溶液并让其通过阴离子交换柱之后，则绝大多数干扰离子可以消除。

9. 8—（苯磺酰胺）喹啉法⁽³⁰⁾。

试剂结构：



该试剂与镉离子在PH=8的磷酸缓冲溶液中所形成的络合物，其荧光强度比试剂与锌离子的络合物大10倍。方法的灵敏度为0.001微克/毫升。

铜、镍、钴、铁、铋、钨、汞等离子有干扰。

10. 乙二醛的双-(4-羟苄腈)法⁽³¹⁾。

在其它阳离子存在下，试剂能在柠檬酸盐溶液中与镉离子螯合而用于荧光检测。方法灵敏度为50mM。

11. 其它方法。

镉的荧光分析法还有8-羟基喹啉法⁽³²⁾。试剂能与镉离子络合，生成亮黄色荧光产物，可检测至低于2 ppm镉。桑色素法⁽³³⁾。试剂与镉离子络合而用于荧光检测，方法灵敏度为2 ppm。

三、汞的荧光分析

(一) 概述。

汞的荧光分析法，主要是通过形成三元络合物，然后用有机溶剂萃取而作荧光读数的方法来测定的。例如，汞离子与罗丹明B和Br⁻或Cl⁻能形成Hg(II)-RhB-Br(Cl)三元络合物，经苯萃取后能发生荧光。丁基罗丹明B，四溴荧光素与1,10-菲绕啉，也能与汞离子形成三元络合物而用于荧光测定。

汞离子能熄灭罗丹明B及NADH的荧光，也能用于检测。Hg(II)还能催化DPKH的自动氧化，氧化产物产生强蓝色荧光，此法灵敏度较高，可检测80—320ppb Hg(II)。

汞的各种荧光分析法灵敏度为：

(二) 分析方法。

1. 罗丹明B法⁽³⁴⁾。

在PH小于4的0.4mM碘化钾溶液中，罗丹明B的荧光由于形成Hg(II)-罗丹明B-I⁻三元络合物而被熄灭。由此可作荧光检测。 $\lambda_{ex}486nm$, $\lambda_{em}586nm$ 。

此法可检测0.1—10ppm汞。

试 剂	分析方法	检测灵敏度ppm
罗丹明B	荧光熄灭	0.1
硫 胺	荧光络合物	0.05
丁基罗丹明B	三元络合物	0.03
四溴荧光素	三元络合物	0.05
NADH	荧光熄灭	0.01
DPKH	催 化	0.008.

半胱氨酸, 铊、钇、铂、铋、镉、铁和铈有干扰。

同此原理, 也可形成 $\text{Hg}(\text{II})$ —罗丹明B— Br^- 三元络合物。用苯从4.5N硫酸+0.1N Br^- 中萃取, 作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}560\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}590\text{nm}$ 。灵敏度1.0—10 $\mu\text{g}/6\text{ml}$ 。许多阳离子有干扰⁽³⁵⁾。

如用氯离子代替溴离子, 可形成 $\text{Hg}(\text{II})$ —罗丹明B— Cl^- 三元络合物。 $\lambda_{\text{ex}}560\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}590\text{nm}$ 。灵敏度0.25—10 $\mu\text{g}/10\text{ml}$ (36)。

2. 硫胺法⁽³⁷⁾。

汞与试剂生成硫色素, 可用以荧光测定。

操作手续:

将含有0.1—5微克汞离子的样品溶液, 与2毫升 $\text{PH}=7.7$ 的盐酸—硼砂缓冲溶液混合。加入1毫升0.03M盐酸硫胺溶液, 然后稀释至10毫升, 1小时后读数。 $\lambda_{\text{ex}}375\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}440\text{nm}$ 。

检测浓度范围: 汞离子为0.05—1.6微克/毫升; 亚汞离子为0.2—1.6微克/毫升。

银、锡、铋、铁, 碘化物, 硫酸根, 硫化物, 铁氰化物, 亚

铁氰化物，锰酸盐，铬酸根等有干扰。

如用萃取法，则操作如下：将5毫升含有0.25—8微克汞的样品，与1毫升硫胺试剂（试剂浓度视汞的含量多少加入0.5或5微克/毫升），一起摇匀。然后加入4毫升PH=9.5的硼酸盐缓冲溶液，再振荡1分钟。在100℃加热5分钟后在冰水浴中冷却。最后加入3.5克氯化钠，用6毫升异丁醇萃取生成的硫色素，将有机相作荧光读数。 $\lambda_{ex}375nm$ ， $\lambda_{em}430nm$ 。

3. 丁基罗丹明B法⁽³⁸⁾。

在用结晶紫分离一些干扰离子后，汞离子可作为丁基罗丹明B的络合物而被萃取，从而用作荧光测定。

操作手续：

称取1克试样于50毫升烧杯中，加入5毫升浓硝酸，在水浴上加热10分钟，加入0.5毫升浓HCl，加热7—10分钟，加10毫升热水，加热几分钟，冷却后过滤。滤液收集于25毫升容量瓶中，加水至刻度，混匀，放置一小时或隔夜。移出数毫升于50毫升烧杯中，加入硝酸—盐酸混合液（20%硝酸，2%酸盐，78%水）至总体积为10毫升，滴入2—3滴5%FeCl₃溶液，用50%氢氧化钠溶液中和至氢氧化物开始析出（PH3—4），加入0.6毫升1:1硝酸，把溶液转移至一分液漏斗中，加入1毫升1%结晶紫溶液，10毫升苯，1毫升KBr溶液，振荡1分钟，弃去水相，把萃取液倒入另一分液漏斗中。用10毫升0.6N硫酸，分两次反萃取，每次振荡30秒，合并反萃取液于分液漏斗中。加入10毫升水，1毫升10%抗坏血酸溶液，1.5毫升1%结晶紫溶液，10毫升苯，1毫升1%溴化钾溶液，振荡1分钟，静置10分钟后弃去水相。转移苯萃取液于干燥的磨口试管中，加入5毫升0.012%丁基罗丹明B—0.06%溴化钾—11.5N硫酸溶液，振荡30秒钟。10分钟后移出作荧光读数。 $\lambda_{ex}560nm$ ， $\lambda_{em}590nm$ 。

此法灵敏度为 $3 \times 10^{-6}\%$ 汞。

注意事项:

Au(III) 有干扰。

4. 四溴荧光素法⁽³⁹⁾。

在汞与非绕啉的络合物中, 加入四溴荧光素, 可形成汞(II)—四溴荧光素—1,10非绕啉的三元络合物。在PH=9时用1:1氯仿—丙酮萃取, 作荧光读数。 $\lambda_{ex}540\text{nm}$, $\lambda_{em}580\text{nm}$ 。

此法灵敏度为0.05—10微克/10毫升。

许多阳离子有干扰。

试剂可用四碘、二氯四碘荧光素代替。

5. 烟酰胺—腺嘌呤—双核甙酸(NADH)法⁽⁴⁰⁾。

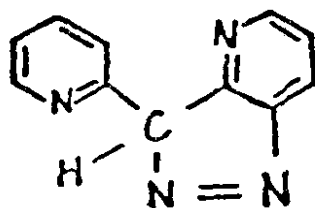
试剂在紫外光照射下会发生荧光, $\lambda_{ex}340\text{nm}$, $\lambda_{em}470\text{nm}$ 。汞离子在PH=4.5的稀溶液中与NADH组成络合物而使NADH的荧光消失。NADH溶液荧光强度下降的程度与 Hg^{2+} 离子含量成线性关系。

此法是灵敏度为0.010微克汞/毫升。

醋酸根、硼酸根、柠檬酸根、碘、溴、氯等离子有干扰。

6. DPKH法⁽⁴¹⁾。

在酸性介质中, 汞(II)能催化DPKH的自动氧化, 生成氧化产物为:



产生强蓝色荧光。

操作手续:

在25毫升容量瓶中, 加入 1 毫升 7.57×10^{-4} MDPKH水溶液, 加入一定体积的汞离子溶液, 使溶液中阳离子浓度在80—320ppb之间。摇荡150分钟后加入10毫升PH=1.9的缓冲剂, 用去离子水稀至刻度, 60分钟后测量。 $\lambda_{ex}359\text{nm}$, $\lambda_{em}43\text{nm}$ 。

此法可检测80—320ppbHg(II)。

注意事项:

在加入缓冲剂前, 对所有溶液的PH值应相同(在6—8之间)。

参考文献:

1. D. Mahanand and J. C. Houck, Clin. Chem., 14, 6—11 (1968)。
2. Kunihiro Watanabe and Kyozo Kawagaki, Bull. Chem. Soc. Jap., 48, 1945—1946 (1975)。
3. R. R. Trenholm and D. E. Ryan, Anal. Chim. Acta, 32, 371 (1965)。
4. E. A. Bozhevov, Chem. Abstr., 65, 7989 (1966)。
5. D. P. Scherbov and V. V. Kolmogorova, Zavod. Lab., 28, 649—652 (1962)。
6. D. T. Haworth and R. H. Boeekeler, Microchem. J. 13, 158—164 (1968)。
7. L. S. Bark and A. Rixon Anal. Chim. 45 Acta., 425—432 (1969); Biochem. Med., 14, 378—383 (1975)。

8. A.V. Koustantinov L.M. Korobochkim, and G.V. Anastasina, Tr. Nov. Appar. Metod. perv. Mosk. Med. Inst. 1967 (5), 167—173.
9. Kinzo Nugasawa and Osamu Ishidaka, Chem. pharm. Bull. (Tokoyo) 22, 375—384 (1974).
10. Naoki shimidzu and Toyozo Uno, Chem. pharm. Bull. (Tokoyo)21, 762—765(1973).
11. A.K. Babko and Z.I. Chalaya, Zh. Anal. Khim, 17, 286—290(1962); Cf, ibid, 16, 268—271(1961).
12. 加藤春美、上村信夫等, 分析化学, 21, 856 (1972).
13. D.P. shcherbov and V.V. Kolmogorova Zavod. Lab. 28, 649—652 (1962).
14. D.E. Ryan, F. Snape, M. Winpe, Anal. Chim. Acta, 58, 101(1972).
15. E.P. Jensen and R.T. Pfaum, Anal. Chem., 38, 1268 (1966).
16. Imre Kasa and Jenó Kovosi, Period. Pdytech. Chem. Eng., 17, 241—255(1973).
17. C.E. White and M. Neustadt Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 15, 599 (1943).
18. A. Konstantinov, L.M. Korobochkin and G.V. Anastasina, Referat. Zh. Bid. Khim., 1968, Abstr. no. 8f89.
19. K. Ritchie and J. Harris. Anal. Chem., 41, 163 (1969)
20. E. Sawicki and R. A. Carnes, Anal. Chim. Acta, 41, 178(1968).
21. Д.Н. Лисиц ына, идь., ЖАХ, 28, 1203(1973).

22. N. Louis and A. Reber, *Anal. Chem.*, 26, 936 (1954).
23. C. Ti Huu, A. I. Volkova, and T. Getman, *Zh. Anal. Khim.*, 24, 688 (1969).
D. T. Haworth and R. H. Bosikeler, *Mikrochem. J.*, 13, 158—164 (1968).
24. B. Budesinsky and T. S. Weser, *Analyst*, 94, 182—183 (1969).
25. M. A. Matveets and D. P. Scherbor, *Zh. Anal. Khim.*, 26, 823—826 (1971). D. N. Lisitsyna and D. P. Scherbor *ibid* 28, 1203—1205 (1973).
26. Imre Kasa and Gabor Bajnoczy, *Period. Polylech. chem. Eng.* 18, 289—294 (1974).
27. D. E. Ryan, A. E. Pitls and R. M. Cassidy, *Anal Chim. Acta*, 34, 491—494 (1966).
28. Kinzo Nagasawa and Osamu Ishidaka, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 22, 375—384 (1974).
29. 陈国珍《荧光分析法》p. 143—144 (1975).
30. *ibid.*, p. 143 (1975).
31. M. lever, *Anal. Chim. Acta.* 65, 311—318 (1973).
32. J. Eisenbrand, *pharma. Ztg.*, 75, 1003 (1930).
H. Goto, *sci. RePt. Tohoku Imp. Univ.*, Ser. 1, 29, 204 (1940).
33. V. Patrovsky, *Chem. Listy*, 47, 646 (1953).
34. G Oshima and K. Nagasawa, *Chem. pharm. Bull Tokyo*, 18, 687 (1970),
35. P. R. HADDAO, *Talanta* 24, 1—13 (1977),
36. *CA.* 60, 7450h (1964),

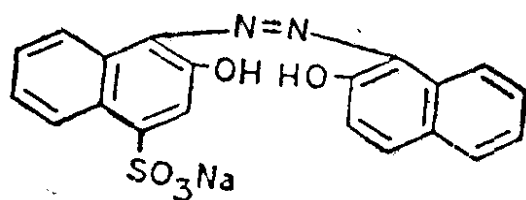
37. Yasuhiro Yamane, Motoichi Miyazaki, Takahiro Kasamatsu Murakami, Sumiko kito and yayoi—cho chiba. Jap. Anal. 22, 192—196(1973).
J. Holzbecher and D. E. Ryan, Anal. Chim. Acta, 64, 333—336(1973).
38. I. A. Blyum, N. A. Brushtein and L. A. Oparina. Zh. Anal. Khim., 26, 48—54(1971).
39. D. N. Lisitsyna and D. P. Shcherbov Zh Anal. Khim., 28. 1203—1205(1973),
40. A. Gorgia, D. Monnier, Anal. Chim. Acta, 54, 505 (1971).
41. F. GRases, F. Garcia. Sanchez., Anal, Chim. Acta, 119, 359 (1980).

第五节 铝的荧光分析

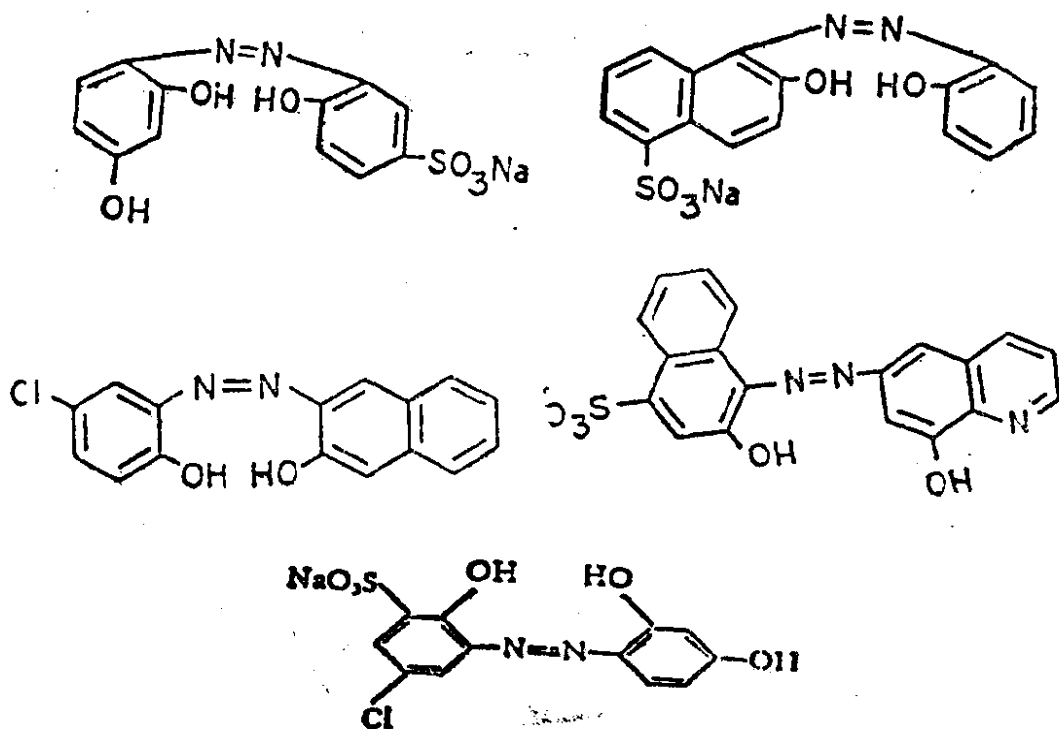
一、概述

铝的荧光分析方法很多，常用的有20多种。主要都是根据铝离子会和许多种有机试剂形成荧光络合物的原理而建立起来的。

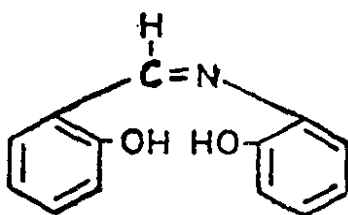
能与铝离子生成荧光络合物的试剂很多，比较重要的是溴铬蓝黑R染料和类似这类染料结构的试剂。溴铬蓝黑R染料的结构式如下：



它具有偶氮结构，且偶合的两个萘环相邻位有两个羟基，这样结构的试剂，能与铝离子络合而生成荧光化合物。由此，设计了类似结构的试剂而用于铝的荧光分析中。如：

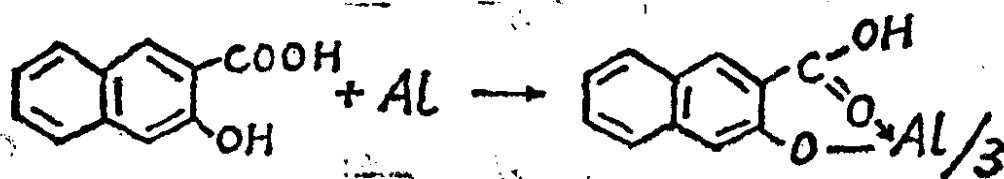


水杨叉替一邻一氨基酚 (SOAP)，其结构为：



与铬滂蓝黑R染料结构也有相似之处，也是铝的重要荧光试剂之一。它的各种取代物都能用于铝的荧光检测，它们与铝的络合物的荧光强度F随其取代基的不同而有变化。

3-羟基-2-萘甲酸，是荧光测定铝的灵敏试剂，它与铝的反应式为：



其生成物具有蓝色荧光，检测灵敏度可至ng。

各种不同的试剂，与铝生成的荧光络合物的荧光强度不同。如下图所示，

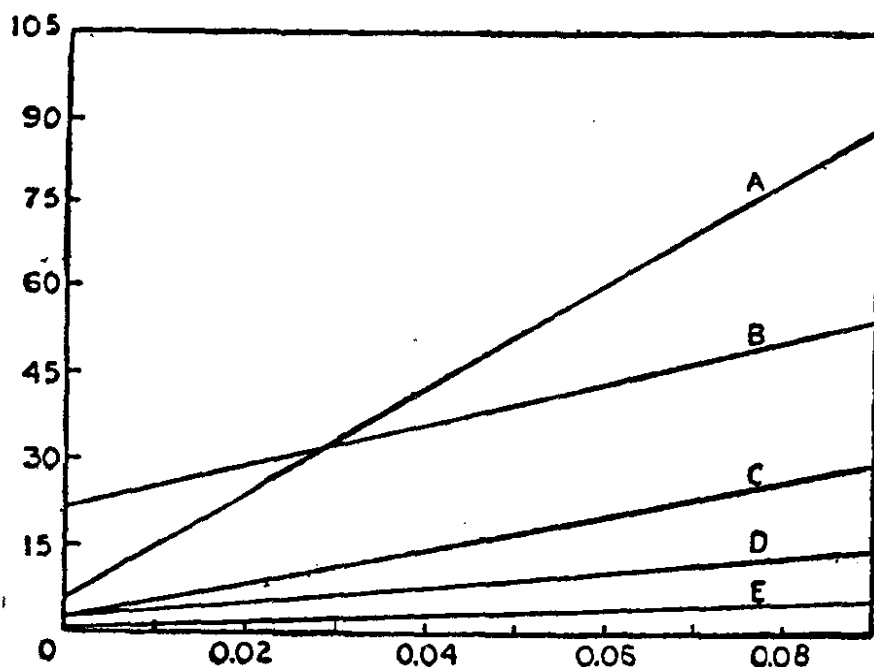


图 8-2 五种用于铝的荧光试剂的相对荧光强度

A: 酸性茜素酱红R B: 3-羟基-2-萘甲酸 C: 滂铬紫SW
D: 桑色素 E: 滂铬蓝黑R

铝的荧光分析法列表如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
酸性茜素紫酱红R	生成荧光络合物	0.007
香豆素衍生物	生成荧光络合物	0.20
Flazo橙	生成荧光络合物	0.001
3-羟基-2-萘甲酸	生成荧光络合物	0.01
8-羟基喹啉	生成荧光络合物	0.10
荧光绿	生成荧光络合物	0.014
媒染蓝9	生成荧光络合物	0.0005
桑色素	生成荧光络合物	0.05
滂铬BBR	生成荧光络合物	0.02
滂铬VSW	生成荧光络合物	0.02
栎 精	生成荧光络合物	0.05
N-水杨叉替-2-氨基-3-羟基茛	生成荧光络合物	0.001
水杨叉替-邻-氨基酚	生成荧光络合物	0.0003
羊毛铬蓝黑B	生成荧光络合物	0.4
2-羟基-1-萘醛-苯胺	生成荧光络合物	0.1
醌茜素磺酸	生成荧光络合物	0.01
水 杨 醛	生成荧光络合物	0.1
DHNA	生成荧光络合物	0.1
超铬紫酱红Y	生成荧光络合物	0.1
茜素红S	生成荧光络合物	0.002

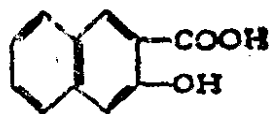
续表

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
3-氨基-5-磺基水杨酸	生成荧光络合物	0.005
3, 4, 5, 7-四羟基黄酮	生成荧光络合物	0.1
PAN	生成荧光络合物	0.1
3, 3', 4', 5, 7-五羟基黄酮	生成荧光络合物	0.0001
—4—β—D—吡喃葡萄糖甙	生成荧光络合物	0.001
2-(间羟苯叉氨基)苯酚	生成荧光络合物	0.1
安替比林—栋精	三元络合物	0.1

二、分析方法

1. 3-羟基-2-萘甲酸法⁽¹⁾。

试剂结构：



它能与铝离子在PH=5.8的溶液中络合，生成的化合物在紫外线照射下会发生蓝色荧光。

此法可检测至0.2纳克铝。

铍、钪、锆、锆等离子有干扰。

操作手续：

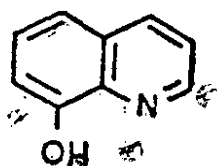
缓冲溶液的配制：在800毫升水中，加入40毫升冰醋酸，用约40毫升氨水调节PH至5.8，然后稀释至1升。或用PH=5.8的

醋酸钠—醋酸缓冲溶液。

取含有0.2—2.5微克铝的样品溶液，加入5 ml PH=5.8的缓冲溶液，再加入10毫升试剂（每毫升含试剂0.2102克），然后稀释至100毫升，作荧光读数。 $\lambda_{ex}370\text{nm}$, $\lambda_{em}460\text{nm}$ 。

2. 8-羟基喹啉法⁽²⁾。

试剂结构：



它与铝离子所生成的络合物，在紫外光照射下会发生黄绿色荧光。

此法灵敏度为0.10ppm。

Ti、V和Fe杂质熄灭产物的荧光。

操作手续：

移取含铝量约为2—10微克的试样溶液约100毫升于250毫升分液漏斗中（如试样含有大量铁离子，须先用汞阴极电解法除去），加入2毫升2%试剂的1N醋酸溶液，2毫升醋酸铵—氨水缓冲溶液（每升含醋酸铵200克及浓氨水70毫升），以6N氨水调节溶液PH值为6.5—9.5。用新蒸馏过的氯仿20毫升萃取两次。萃取液经滤纸过滤至50毫升石英或硼硅酸玻璃容量瓶中，以氯仿稀释至刻度，然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}530\text{nm}$ 。

铀中铝的测定⁽³⁾：

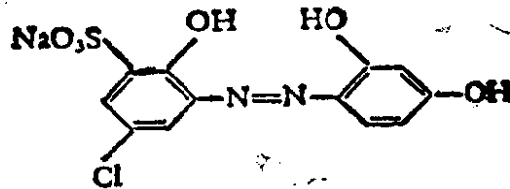
将0.2克样品加入几滴盐酸和硝酸，在100℃加热溶解，蒸干。将残渣溶在20毫升1:1盐酸中，用10ml乙醚萃取。将水层放至原来的烧杯中并加入含2毫升水和几颗硫氰酸钾晶体的乙醚溶液以指示铁的存在。重复萃取水层直接铁离子被除去。如果需测

铁离子，则将乙醚萃取液合并。

将水相稀释至100毫升，取20毫升整蒸干。加入10ml 8%碳酸钠溶液并加热煮沸10分钟以掩蔽铀。冷却，加入1毫升2%试剂的1N醋酸溶液，用氯仿萃取两次，每次5毫升。将氯仿萃取液用滤纸过滤，并作荧光读数。用硫酸奎宁作参照。

3. 荧光镓法(4)。

试剂结构：



它在弱酸性 (PH=5) 溶液中，与铝生成络合物，会发生黄绿色荧光。 $\lambda_{ex}485nm$, $\lambda_{em}576nm$ 。反应在80℃时20分钟内完成，络合物可用戊醇萃取。

此法灵敏度为：0.004—0.08ppm。

铁、镍、铜、钴、铬、钒、锡、钨的存在会使结果偏低。

海水中铝的测定：

在含0.003—2微克铝的样品中，加入0.5毫升0.01%试剂溶液，5毫升20%醋酸铵溶液并用1:1盐酸调节PH至5。然后稀释至25毫升，在80℃加热20分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}365nm$, $\lambda_{em}558nm$ 。

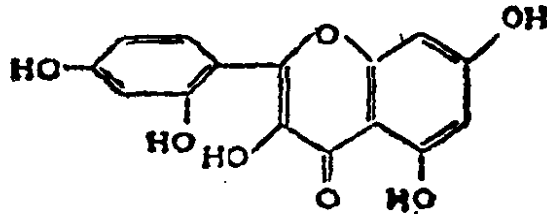
天然水中Al的测定：

在15毫升样品中加入2毫升4%盐酸羟胺溶液，静置15分钟以还原铁离子。加入1毫升1%1, 10-菲绕啉溶液以掩蔽铁，然后加入0.5毫升0.01%试剂溶液和2毫升2%醋酸铵溶液，至PH=5。稀释至25毫升，在80℃加热20分钟，冷却后作荧光读

数。λ_{ex}485nm, λ_{em}576nm。使用0.168微克/毫升罗丹明 B 作参照。

4. 桑色素法⁽⁵⁾。

试剂结构：



铝离子与试剂能发生络合，生成的化合物会发生亮绿色荧光。

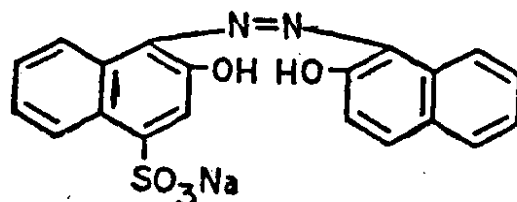
在水中铝的测定：

在99毫升样品溶液中，加入1毫升1：1醋酸，对于高纯度的水，PH为3。用此酸性样品溶液将5 ml桑色素的乙醇溶液稀释至100ml，放置20分钟，或在100℃加热30秒，冷却后作荧光读数。λ_{ex}440nm, λ_{em}525nm。

此法灵敏度为0.05ppm。

5. 铬蓝黑R染料法⁽⁶⁾。

试剂又名2，2'-二羟基-1，1'-偶氮苯-4-磺酸钠盐，其结构式为：



它与铝离子在醋酸—醋酸铵缓冲溶液中能生成络合物而显出橙红色荧光。可检测低于0.002ppm的铝。此法的荧光强度受溶液

PH值、试剂浓度及放置时间的影响较大。

铁、铜、镉、镍、钴等离子有干扰，但可用汞阴极电解法加以消除。

操作手续：

在样品溶液中，加入5毫升10%醋酸铵溶液，再加入一定量的0.1%试剂乙醇溶液。试剂加入的量根据铝的含量决定：对于0.2—1微克的铝，加入1毫升；对于1—12微克的铝，加入1.5毫升；对于12—18微克的铝，加入2毫升。调节溶液PH至4.8，然后稀释至50ml，在100℃加热10分钟，冷却后作荧光读数。 $\lambda_{ex}535nm$ ， $\lambda_{em}600nm$ 。

此法经过改变，采用戊醇从PH4.8的溶液中萃取铝离子与该试剂所生成的化合物，然后在593nm处测量萃取液的荧光强度，其测定范围为0.002—0.06微克铝/毫升，曾用于纯锌中微量铝的测定。

有机物中铝的测定：(7)

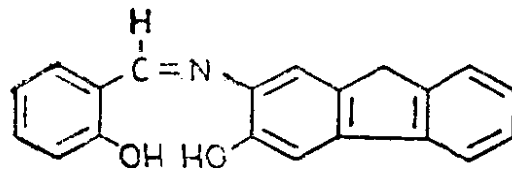
将含有约10微克铝的样品在铂金坩埚中加热以破坏有机物。将残渣溶于2毫升1:4硫酸中，加几滴水。用约2.5毫升15%醋酸铵溶液调节PH=4.5。加入5毫升0.01%试剂溶液，并稀释至20毫升，在100℃加热15分钟，冷却后作荧光读数。 $\lambda_{ex}535nm$ ， $\lambda_{em}595nm$ 。

硫化锌荧光颜料中铝的测定(8)：

在铂金坩埚中，加入0.1克样品与1毫升硫酸并一起加热至三氧化硫冒烟。放至10毫升水中，电解除去干扰离子。加入0.75毫升0.1%染料乙醇溶液（内含0.25克醋酸铵），调节PH=5并稀释至25毫升，在聚乙烯中放置2小时，读数。 $\lambda_{ex}535nm$ ， $\lambda_{em}595nm$ 。

6. N—水杨叉—2—氨基—3—羟基茆法(9)。

试剂结构：



它与铝螯合生成黄色螯合物，在阳光照射下会发生很亮的荧光。

操作手续：

在样品中，加入 1 毫升 mM 试剂乙醇液和 PH=5.2 的醋酸盐缓冲溶液 1 毫升，然后稀释至 10 毫升。在溶液中的试剂必须维持乙醇含量为 10%，然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}445nm$ ， $\lambda_{em}520nm$ 。遵守比尔定律的浓度范围为 0.001—0.04mM 铝。

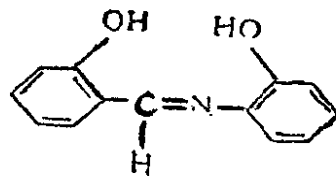
试剂在乙醇中不稳定，必须在使用时现配。将此试剂溶在醋酸的二甲基甲酰胺溶液中，能使试剂更稳定，而且得到更灵敏的结果。

此法可检测 2 ng 的铝。

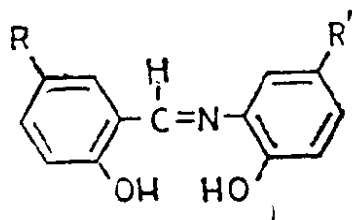
有色金属离子以及铁、镓、氟、磷酸根等离子有干扰。

7. 水杨叉一邹一氨基酚 (SOAP) (10)。

试剂结构：



它与铝离子生成 2 : 1 的荧光络合物，发绿色荧光。其灵敏度为 0.27ppb。在铝与试剂的螯合物的荧光反应中，试剂的各种取代基的影响列表如下：



由表可以看出SOAP的苯基衍生物得到最强的荧光。

操作手续：

PH=5.6的缓冲溶液的配制：在400毫升水中溶解50克醋酸铵，再加入10毫升醋酸。

取含有2.7微克铝的样品溶液10毫升，与10毫升PH5.6的醋酸—醋酸铵缓冲溶液混合，加入30毫升乙酸乙酯和10毫升0.2%二乙基二硫代氨基甲酸钠溶液。萃取30秒钟，弃去有机相，在水相中加入5毫升0.1%试剂溶液，稀释至100毫升，放置20分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}410nm$ 。 $\lambda_{em}520nm$ 。

镉盐中铝的测定：

将0.5克样品（内含不少于1ppm铝）溶于10毫升PH6.2—6.4醋酸盐缓冲溶液中，加入0.3毫升0.01%试剂溶液，静置30分钟后，在530nm处测荧光。（11）

碘化钠或硫酸亚铁铵中铝的测定：

将样品溶液的PH调节至6，加入有效的试剂丙酮溶液（内含42%过氯酸钠），稀至5毫升并放置50分钟，用5毫升1：1氯仿—磷酸三丁酯摇荡萃取10分钟，分出萃取液作荧光读数。 $\lambda_{ex}410nm$ ， $\lambda_{em}520nm$ 。（12）。

铅盐中铝的测定：

溶剂的配制：将7.5毫升2M醋酸与92.5毫升2M醋酸钠混合。此溶剂既可作为PH=6的缓冲液，又可络合铅以阻止干扰。

表 SOAP的取代基效应

$\frac{R' = H}{R}$		F	$\frac{R = H}{R}$		F	R'	R	F
C ₆ H ₅	380		H	251		C ₆ H ₅	CL	53
CH ₃	281		CL	156		CL	Br	142
(CH ₃) ₂ CCH ₂ CH ₃	276		CH ₃	142		CL	CL	142
H	251		C ₆ H ₅	108		CH ₃	CH ₃	138
CL	222					C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	138
Br	177							
CO ₂ CH ₃	167							
OCH ₃	124							
I	120							
OH	69							
NO ₂	1							

在7—8毫升溶剂中溶解1克醋酸铅或硝酸铅，加入0.3毫升试剂溶液并用溶剂稀至10毫升，放置50分钟后作荧光读数。
 $\lambda_{ex}410nm$, $\lambda_{em}520pm$.

硫化铅中铝的测定：

将1克样品用8毫升硝酸加热分解，蒸发至干，煅烧以燃尽游离的硫，将硫酸铅溶在缓冲液中，再按上法操作。

8. 羊毛铬蓝黑B法⁽¹⁴⁾。

在醋酸盐缓冲溶液中，试剂能与铝络合生成荧光产物。此法可检测0.4微克铝/毫升。

铈中铝的测定:

用2毫升硝酸分解1克样品,加入2毫升氢溴酸并蒸发至干。再次加入2毫升氢溴酸并蒸发至干,将残渣溶在4毫升10N盐酸中并将溶液转移至试管中,加入1毫升熔化的石蜡和2毫升醋酸戊酯,放在热水中,加塞摇荡1分钟,冷却直至石蜡固化,它将萃取干扰量的铁和铈。倒出水层,蒸发至干并点燃。将残渣溶在0.1毫升0.25N盐酸中并稀至1.6毫升。加入0.4毫升5%碘化钾以掩蔽残留的铈,放一小时。加入0.2毫升1:1M醋酸钠—0.1M醋酸缓冲液,再加入0.1毫升0.25%1,10-菲绕啉乙醇溶液,0.1毫升0.02%试剂乙醇液和1毫升乙醇,然后作荧光读数。

钛中铝的测定:

在0.1克样品中加入4毫升氢氟酸,1毫升硝酸和1毫升1:1硫酸,加热蒸发至三氧化硫冒烟。将残渣溶在0.5N硫酸中,并用此酸稀释至100毫升。用6%铜铁灵氯仿液分三次,每次15毫升萃取除去钛。然后用氯仿分三次,每次15毫升萃取,将萃取的水溶液蒸发至干,加入0.25毫升1:1盐酸,再蒸发至干。将残留物溶在0.1毫升0.25N盐酸中并过滤,用1毫升水洗滤纸。在滤液中加入0.2毫升1:1的1M醋酸钠—0.1M醋酸缓冲液,0.1毫升0.25%1,10-菲绕啉乙醇液,0.1毫升0.02%试剂乙醇液和1毫升乙醇,然后作荧光读数。(15)

9. 2-羟基-1-萘醛—苯胂法(16)。

此试剂与Al反应生成荧光产物,可检测的线性浓度范围为0.1—1微克铝/毫升。乙酰胂,苯乙酰胂和异萘胂的胂也和铝生成荧光产物。

操作手续:

将4毫升酸性样品溶液与1毫升PH=4.6的0.5M醋酸缓冲溶液混合,加入6毫升2:1甲醇—二甲基甲酰胺混合液和2毫

升试剂溶液（每100毫升50%乙醇中加入4毫克试剂），在40℃保温30分钟，再用50%甲醇稀释至20毫升，然后作荧光读数。
 $\lambda_{ex}395nm$, $\lambda_{em}475nm$ 。

10. 醌茜素磺酸法⁽¹⁷⁾。

它是1,4—二羟基—2—蒽醌磺酸的钠盐，与铝能生成1:1的络合物而用于荧光检测。

操作手续：

取一份样品，铝的含量是当它稀释至50毫升时约为11—54 ppb。在样品溶液中加入2毫升0.1mM试剂和2毫升PH=4.76的醋酸—醋酸钠缓冲溶液，稀释到50毫升，放置1小时后作荧光读数。 $\lambda_{ex}500nm$, $\lambda_{em}558nm$ 。

11. 水杨醛法⁽¹⁸⁾。

试剂能与铝络合而用以荧光读数。

操作手续：

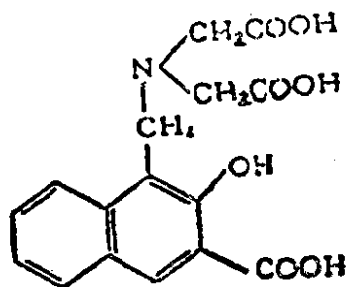
先将铝用纸层析分离，展开剂是用2N盐酸饱和的丁醇。然后用0.5%试剂乙醇液喷洒以显出荧光斑点，再用50%乙醇萃取生成的荧光点，作荧光读数。 $\lambda_{ex}397nm$, $\lambda_{em}486nm$ 。

此法灵敏度为10—100 μ M/毫升。

铍也能形成荧光络合物，而几种金属熄灭荧光。

12. DHNA法⁽¹⁹⁾。

试剂为1—(二羧甲基氨基甲基)—2—羟基—3—萘甲酸，其结构为：



它能与铝络合生成荧光产物。

操作方法见铝的荧光检测中DHNA法，其中试剂改用0.1%水溶液。

13. N—水杨叉—2—氨基—羟基茆法⁽²⁰⁾。

试剂能与铝络合而用以荧光分析。遵守比尔定律的浓度范围为0.001—0.04mM铝。

操作手续：

在样品中，加入1毫升1 mM试剂乙醇溶液和1毫升PH=5.2的醋酸盐缓冲溶液并稀至10毫升，在溶液中需维持乙醇浓度为10%。然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}445nm$ ， $\lambda_{em}520nm$ 。

14. 超铬紫酱红丫法⁽²¹⁾。

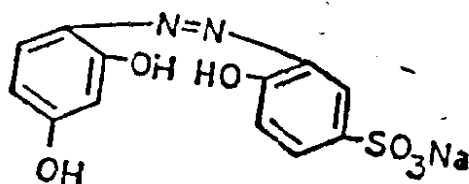
试剂能与铝络合而用以荧光检测。钴、铜、铁、钒(V)铬(vi)等离子有干扰。

操作手续：

在含有0.1—4微克铝的20毫升样品溶液中，加入0.7毫升0.01%试剂溶液和2毫升20%醋酸铵溶液，调节PH=5，稀释至25毫升，在50℃加热10分钟，冷却，然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}485nm$ ， $\lambda_{em}565nm$ 。

15. 酸性茜素紫酱红法⁽²²⁾。

试剂又名2, 4, 2'—三羟基偶氮苯—5'—磺酸钠，其结构为：

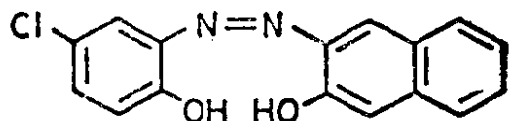


它与铝络合生成的产物，能发生亮黄色荧光。荧光峰580nm。

此法灵敏度为0.007ppm。

16. 2-羟基-5-氯苯偶氮-2-羟基萘法⁽²³⁾。

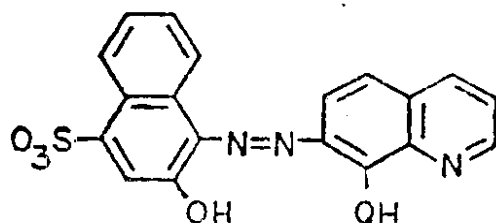
试剂结构：



它能在醇溶液中与铝络合，生成产物会发生红色荧光。此法灵敏度可达0.001ppm。

17. 媒染蓝9法⁽²⁴⁾。

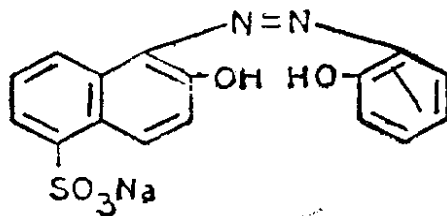
试剂结构：



它能与铝生成荧光络合物而作荧光检测。可检测至0.5ppb铝。

18. 溴铬VSW法⁽²⁵⁾。

试剂结构：



它能与铝络合，生成产物发橙红色荧光。络合反应在PH=5的醋酸盐-醋盐缓冲溶液中进行，一小时后荧光达到最大值。遵守比尔定律的浓度范围为0.2—2微克铝/毫升。

19. 茜素红S法⁽²⁶⁾。

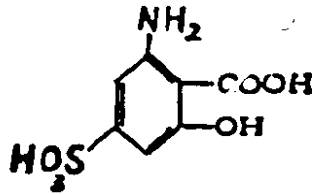
试剂的荧光峰在480nm处，它与铝络合后，产物的荧光峰移至521nm处。

反应最佳PH=5，络合物能稳定80分钟。在25毫升溶液中，可检测2—19ng的铝。

铁离子，钪、钍、铀、镓、铬离子，氟化物及硫脲，EDTA钼酸根和钒酸根有干扰。

20. 3—氨基—5—磺基水杨酸法⁽²⁷⁾。

试剂结构：



在PH4.8—6.5时，它能与铝络合，产物会发生强的蓝色荧光。

在PH5.8和离子化强度为1.5时，此法能检测0.005微克铝/毫升。荧光峰640nm。

铍离子有类似反应。UO₂⁻，Fe³⁺，草酸根，F⁻，酒石酸根和EDTA离子熄灭荧光。

21. 3, 4', 5, 7—四羟基黄酮法⁽²⁸⁾。

试剂能与铝络合，生成产物会发生荧光。

操作手续：

将样品溶于很稀的盐酸溶液中，取5毫升，加入0.5毫升0.1 mM试剂，0.5毫升55%乙醇和1毫升PH4—5的缓冲溶液，稀释至10毫升，放置10分钟后作荧光读数。荧光峰482nm。

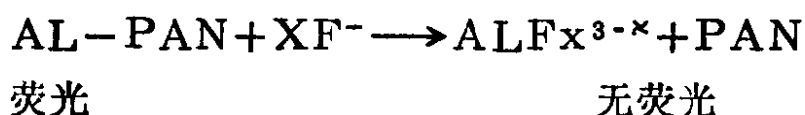
可容许20倍铝量的镧存在。

22. 1—(2—吡啶偶氮)—2—萘酚法⁽²⁹⁾。

试剂与铝在乙醇中络合，可作荧光读数。 λ_{ex} 350nm或545nm， λ_{em} 590nm。此法可检测至10⁻⁶克铝/毫升。加入1 mM

硝酸, 盐酸或氢溴酸以及20倍量最大百分数的乙醇, 能增强荧光。

试剂浓度为 $10^{-3}M$, 即溶解0.0678克试剂于250毫升无水乙醇中。利用此反应可测定镍(II)和氟化物(熄灭荧光), 反应式如下:



23. 3, 3', 4', 5, 7—五羟基黄酮—4— β —D—吡喃葡萄糖甙法⁽³⁰⁾。

试剂在50%乙醇溶液中, 用醋酸盐缓冲溶液调节PH为4.8-5.15时, 能与铝生成1:1的络合物。荧光在40分钟后显出, 再放置4小时后作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}420-430\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}545-555\text{nm}$ 。遵守比尔定律的浓度范围为1—20ng铝/毫升, 可容许等量的Ti, Mo, Bi, V或Zr离子存在。

24. 其它方法。

槲皮素法⁽³¹⁾。试剂是桑色素的异构体, 它与Al络合显出很强的绿色荧光。

亮茜素蓝G (Mordant blue 31) 法⁽³²⁾, 试剂与铝络合显出红橙色荧光。Ga, Sc, Y, La, Lu, In 和 Mg 有类似反应。

4—羟基—3—(2—羟基—4—甲氧基苯偶氮)苯磺酸和4—(2—羟基苯基)间苯二酚法(33)。铝与它们形成螯合物而用于荧光检测。前一试剂, PH2.7—5, $\lambda_{\text{ex}}495\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}570\text{nm}$; 后一试剂, PH=5, $\lambda_{\text{ex}}480\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}568\text{nm}$ 。灵敏度分别为0.05—2 $\mu\text{g}/25\text{ml}$ 和0.05—1 $\mu\text{g}/25\text{ml}$ 。

2—(间羟苯叉氨基)苯酚法⁽³⁴⁾。在40%丙酮中,试剂于PH 1—5.4时与铝形成1:1络合物。荧光峰为544—554遵守比尔定律浓度范围为0.01—20 $\mu\text{g Al}/25\text{ml}$,铜、铁、镍离子有干扰。仅容许20倍铝量的锌,铍和汞离子存在。

水杨醛甲酰脲法(35)。试剂与铝能生成络合物而用于荧光读数。灵敏度为0.7—22 $\mu\text{g Al}/25\text{ml}$ 。铁、镍、锌和铬可用巯基乙酸掩蔽,Cu用硫代硫酸根掩蔽。

2—水杨叉氨基苯肿酸法⁽³⁶⁾。在PH 4—5时,试剂与铝生成1:1络合物,荧光峰545nm。灵敏度为0.1微克/毫升。

3—(4—氯—2—羟基—3—磺苯基偶氮)铬变酸法⁽³⁷⁾。试剂与铝形成1:1络合物,荧光峰620nm。操作时,使用PH = 6 醋酸盐—氢氧化铵缓冲溶液。遵守比尔定律的浓度范围为0.023—0.190微克/毫升。铜、铁、铬(VI)离子和硼有干扰。

芳香希夫碱法⁽³⁷⁾。可用于检测铝、镓、铍、钪、有较高的灵敏度。

羊毛铬红B法⁽³⁸⁾。可用于荧光检测铍、镁、铝、镉、镓、锌。

安替比林—栎精法。试剂与铝形成铝(III)—安替比林—栎精三元络合物,用氯仿从PH 5及次氯酸钠中萃取,然后作荧光检测。 $\lambda_{\text{ex}}365\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}509\text{nm}$ 。镓、镉、锆(IV)、钍(IV)铁等离子有干扰。

参考文献

1. I. Cherkesov and V. zhegalkena, Dokl, Akadn Nauk, SSSR, 118, 309(1958).
G. F. Kirkbright, T. S. West and C. Woodward, Aal. chem., 37, 137(1965).
G. F. Kirkbright and W. I. Stephen, Anal.

- Chim. Acta, 32, 544(1965).
2. C. Gentry and L. Scherrington, *Analyst*, 71, 432(1946).
 3. A. F. Fidetova, *Zh. Anal. Khim.*, 17, 302—304 (1962). Edward Coon, Joseph E. pettey, Warren H. McMullen and Stephen E. Wiberley, *Anal. chem.*, 25 308—610(1953).
 4. Y. Nishikawa, K. Hiraki, K. Morishige and T. Shugematsu, *Japan Analyst*, 16, 692(1967).
 5. C. E. White and C. S. Lowe, *Ind. Eng. chem., Anal. Ed.*, 12, 229(1940). F. will, *Anal. Chem.*, 33, 1360—(1961).
 6. A. Weissler and C. E. white, *Anal. chem.*, 18, 530(1946).
 7. A. puech, G. Kister and J. Chsnal, *Zentbl. pharm. pharmakether. Lab—Diagn.*, 111, 7-18 (1972)
 8. A. Danneil, *Tech.—Wiss. Abhancll. Osram—Ges.*, 7, 350—356(1958).
 9. C. E. White, H. Mefarlane J. Fogt and R. Fuchs, *Anal. chem.*, 39 367(1967)
 10. R. M. Dagnall, R. Smith and T. S. West, *Talanta*, 13, 609 (1966).
 11. N. B. Lebed and R. P. pantaler, *Zarod. Lab.* 31, 163—164(1965)
 12. L. A. Demina, O. M. Petrukhin, Yu. A. Zolotov and G. V. Serebryakova, *Zh. Anal. Khim.*, 27, 1731—1735(1972).
 13. V. V. klimov, O. S. Didkorskaya and V. N.

- Kozachenko, *Zarod. Lab.*, 28, 652—654(1962).
14. V. A. Nazarenko, M. B. Shustova, R. V. Raritskaya and M. P. Nikonora, *Zavod, Lab.*, 28, 537—539(1962).
 15. *ibid.*, 28 645—648(1962).
 16. Toyozo Uno and Hirokazu Taniguchi, *Jap. Anal.*, 20, 1123—1128(1971).
 17. F. Capiman Garcia, M. Roman Ceba and A. Guiraum, *An. Quin.*, 70, 508—514(1974).
 18. Lina Beu—Dor and E. Jungreis, *Isr. J. Chem* 8 951—954(1970).
 19. B. Budesinsky and T. S. West, *Anal. Chim. Acta*, 42, 455(1968).
 20. R. Kh. Dzhivanbeava, A. T. Tashkhodzhev, L. E. Zeltser and Kh. khikmatov, *Tr. Tashkt. Gos. vniv* 1972(419)84—88
 21. Keizo Hiraki, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 45, 1395—1399(1972).
 22. W. Powell and J. Saylor, *Anal. Chem.*, 25, 960 (1953).
 23. C. E. White, in *Fluorescence, Theory, Instrumentation and practice*(G. G. Guilbault, ed.) Dekker, New York 1967, p. 281.
 24. J. de Albinati, *Anales Assoc. Quin. Argentina*, 53, 61;(1965). *Anal. Abstr.*, 5432(1966).
 25. J. Bogнар and M. P. Szabo, *Mikrochim. Acta*, 1969, 221—224.
 26. M. K. Akhmedli, D. A. Efendiev and F. I. Ru-

- vinova, Uch. Zap. Azerb. Gos. Vniv., Ser. Khim Nauk 1973(4), 10—15.
27. N.M. Alykov and A.V. Brunin, Izv. Vyssh. ucheb. Zared. Khim Khim. Tekhnol., 1974, 1254—1255.
 28. Z.T. Maksimycheva, Sh. T. Talipov and V Ya Artemora, Nauch. Tr. Tashkt. Gos. Univ. 1973 (435), 39—43.
 29. J.G. Surak, M.F. Herman and D.T. Haworth, Anal. Chem., 37, 428 (1965), P.R. Hadded, P.W. Alexander and L. E. Smythe, Talenta, 21, 123 (1974).
 30. Z.T. Maksimycheva, Sh. T. Talipov, A.P. Pakudina and A.S. Sadykov, Dokl. Akad. Nauk Uzb. SSR 1973(2), 36—37.
 31. A. Davydor and A. Devekki, Zavod. Lab., 10, 134 (1941).
 32. Keizo Hiraki, Bull. Chem. Soc. Jap., 45, 789—793 (1972).
 33. Koizo Hiraki, Bull. chem. soc. Jap., 46, 2438—2443 (1973).
 34. T.A. Shakirova, Sh. T. Talipov, G.S. Andrushko and A. T. Tashkhodzhev, Nauch. Tr. Tashkt. Gos. Univ. 1973(435), 68—71.
 35. Z. Holzbecker and P. Pulkrab, Collect. Czech. Chem Commun. 27, 1142—1149 (1963).
 36. R. Kh. Dzhiyanbeva, A. T. Tashkhodzhev, L. E. Zel'tser and Kh. Khikmator, Tr. Tashkt.

Gos. Univ. 1972(419), 84—88.

37. Morisige, K., Anal. Chim. Acta, 1974, 72(2), 295—305, *ibid.*, 73(3), 245—254(1974).

38. Clarke, R. H., Connors, R. E. Spectrom. Acta, 30A(11), 2063—2068, 1974.

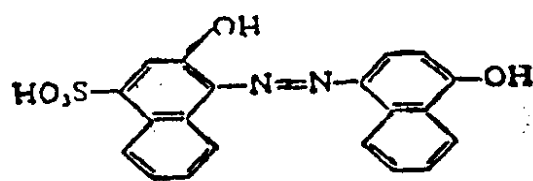
第六节 镓的荧光分析

一、概述

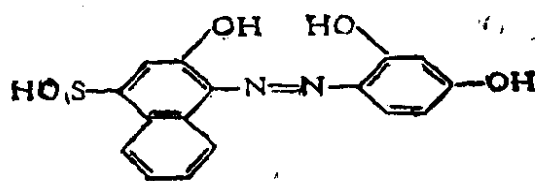
镓的荧光分析方法比较多，基本上都属于形成荧光络合物的类型。能与镓离子生成会发生荧光的有机配位体大体可分为四类：

(一) 喹啉衍生物。如 8—羟基喹啉、2—甲基—8—羟基喹啉（8—羟基喹哪啶）、5, 7—二溴—8—羟基喹啉。

(二) 偶氮染料。其中许多具有这样的结构，



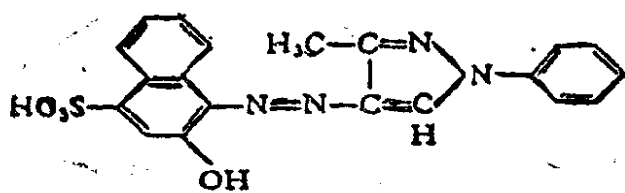
铬洛铬黑



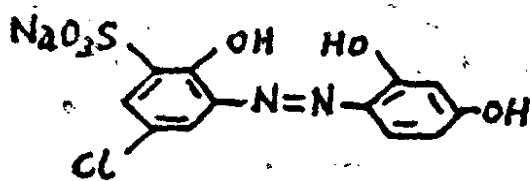
碘基萘酚偶氮间苯二酚

都可用于镓的荧光分析。其中的荧光镓为最常使用。

(三) 罗丹明染料。如罗丹明B，罗丹明6G，罗丹明4G等。其中罗丹明B或罗丹明6G，是分析镓的最好的试剂。这些染料能与镓(III)、金(III)、铈(III)和铝(III)形成荧

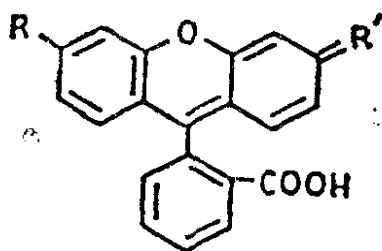


羊毛铬红B



荧光素

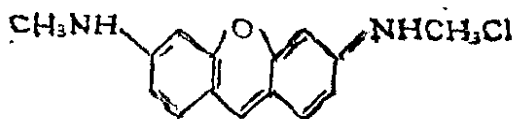
光络合物，然后用苯从盐酸溶液中萃取。对于镓来说最适宜的盐酸浓度为 4 M。镓与罗丹明B的反应比是 1 分子 GaCl_4^- 对 1 分子 RhB^+ 。 GaCl_4^- 可能只与罗丹明B上的 $-\text{NR}_2\text{Cl}$ 或 $-\text{NR}_2$ 络合，荧光素虽然结构上类似于罗丹明B，但由于没有这些基团，不能与镓形成络合物。



a: $\text{R} = \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$; $\text{R}' = \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{Cl}$
(罗丹明B)

b: $\text{R} = \text{OH}$; $\text{R}' = \text{O}$
(荧光素)

另外，吖啶红等染料



与罗丹明B染料比较，结构上虽少一个带羧基的苯环，但有一 NR_3Cl 及 NR_2 基团，也能与 GaCl_4^- 形成络合物。

(四) 其它试剂。加2-(2'-吡啶基)苯并咪唑，水杨醛乙酰脲，HNT，3, 4', 5, 7-四羟基黄酮，栝精-3'-糖甙，BPKPH等。

荧光分析镓的各种方法的检测灵敏度如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
磺基萘酚偶氮间苯二酚	荧光络合物	0.001
8-羟基喹啉	荧光络合物	0.05
荧光镓	荧光络合物	0.1
2-(2'-吡啶基)苯并咪唑	荧光络合物	0.07
罗丹明B	荧光络合物	0.01
吡啶橙NO	三元络合物	0.1
4-(5-氯-2-羟基苯偶氮)间苯二酚	荧光络合物	0.0023
甲基-8-羟基喹啉	荧光络合物	0.02
罗丹明S	荧光络合物	0.01
5,7-二溴-8-羟基喹啉	荧光络合物	0.2
羊毛铬红B	荧光络合物	0.02
1-(5-氯-2-羟基苯基偶氮)		
-2-萘酚	荧光络合物	0.1
水杨醛乙酰脲	荧光络合物	0.07
2-羟基-1-萘醛-硫代缩氨基脲	荧光络合物	0.03
3, 4', 5, 7-四羟基黄酮	荧光络合物	0.002

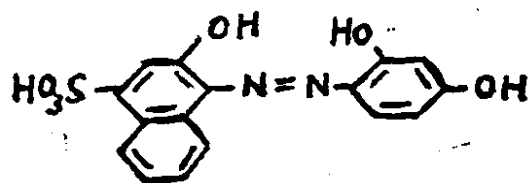
续表

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
8-巯基喹啉	荧光络合物	0.1
栲精-3'-糖甙	荧光络合物	0.14
罗丹明C	荧光络合物	0.1
搔洛铬紫酱红	荧光络合物	0.1
BPKPH	荧光络合物	0.001
桑色素	荧光络合物	0.1
罗丹明6G	荧光络合物	0.1
水杨叉替-邻-氨基酚	荧光络合物	0.1
水杨内酯氨基安替比林	荧光络合物	0.005
2',2,4'-三羟基-5'-氯苯-3'-磺酸	荧光络合物	0.001

二、分析方法

1. 磺基萘酚偶氮间苯二酚法^(1,12)

试剂结构



它与镓离子在酸性溶液中所形成的络合物，在紫外光照射下会发生亮橙色荧光。

操作手续：

将1毫升样品溶液（溶于0.04N盐酸中）与0.2毫升PH=3

的单氯乙酸缓冲溶液和2毫升试剂乙醇液混合，然后作荧光读数。

此法灵敏度为0.01PPm，可用于矿石、煤、铝、锌、生铁及半导体硅中微量镓的测定。

硅中镓的分析：

将1克样品用3毫升硝酸和10毫升盐酸溶解，加热蒸发至干。加入2毫升1：2硫酸和40毫克硫酸钠，蒸发至干，然后在700℃加热30分钟。用2毫升1：1硫酸和1毫升氢氟酸浸湿，再蒸干。将残渣溶于10毫升1：1盐酸中，并加入1毫升10%氯化亚锡的1：1盐酸溶液以还原铁。用乙醚分两次，每次5毫升萃取。用5毫升1：1盐酸洗萃取液，将萃取液与1毫升2%氯化钠溶液一起蒸发。然后将残渣溶于0.2毫升0.2N盐酸中，且加入1毫升水。用0.1毫升单氯乙酸缓冲溶液调节PH=3。加入0.2毫升10%硫酸羟胺溶液，2毫升乙醇和0.2毫升0.1%试剂乙醇溶液，再作荧光读数。

四氯化硅中镓的测定：

将1毫克样品与2毫升水混合，加热蒸干，然后按上法“加入2毫升1：2硫酸……”步骤操作。

硅石(SiO₂)中镓的测定：

在15毫升盐酸中溶入1克样品，加热蒸干，然后按上法中“加入2毫升1：2硫酸……”步骤操作。

锌中镓的测定：

将1克样品溶于5毫升1：1盐酸中，加热蒸干。取出残渣放入5毫升水中，加入2毫升25%碳酸铵溶液，并加入1：1氢氧化铵至PH=9。然后将它通过EDE-10P碳酸盐形的阴离子交换柱，先用25%碳酸铵溶液，后用水淋洗柱子，将提取液蒸干，以下完全按硅中镓的分析中“将残渣溶于10毫升1：1盐酸中并加入……”步骤操作。

2. 8—羟基喹啉法^(2,3,4)。

试剂能与镓络合，用氯仿萃取，在紫外光照射下会发生绿色荧光。

操作时将样品溶于1 : 1盐酸中，镓能用异丙基醚萃取，然后用水再萃取，加入掩蔽剂和试剂，生成的荧光络合物用氯仿萃取。在PH3.9—5.5时，将氯仿萃取液作荧光检测。 $\lambda_{ex}365nm$
 $\lambda_{em}492nm$ 。

硅酸盐矿样中镓的分析：

用10毫升盐酸和1毫升硫酸处理0.2克样品，蒸发至干并将残渣与2克过硫酸钾一起熔融。取此熔块溶在10毫升1 : 1盐酸中，用20毫升乙醚分两次，每次10毫升萃取镓、铁和一些其它元素。蒸发乙醚萃取物至干，并将残渣溶于5毫升1 : 5盐酸中。加入1克盐酸羟胺和1毫升1%试剂的1N醋酸溶液，用5毫升2%醋酸铵调节PH至3.9。用30毫升氯仿分三次，每次10毫升萃取，并将萃取液稀至50毫升，在492nm处作荧光读数。

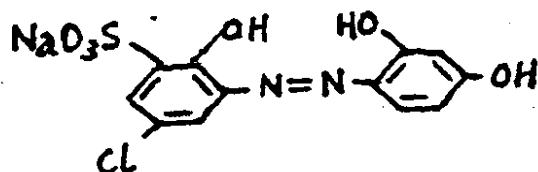
非铁矿中镓的测定：

在铂金坩埚中，用3毫升硝酸，2毫升硫酸和5毫升盐酸分解0.5克样品，蒸发至干。加入5毫升水，再次蒸干。与2毫升30%过氧化氢和1毫升硫酸一起加热直至三氧化硫全部赶走。然后将其溶在10毫升1 : 3盐酸中并加热至40℃。加入1克金属镉，混合10分钟，再加入镉，若取代完全则加入的镉不再变黑。在有些情况下，反应完成的时间长达12小时。通过用1 : 3盐酸弄湿的棉花过滤，用6毫升1 : 3盐酸，分两次，每次3毫升洗残渣。在滤液中加入8毫升盐酸和0.5毫升10%三氯化钛的1 : 1盐酸液。在对铁还原一分钟后，用1 : 1盐酸饱和的乙醚萃取两次，每次25毫升。用乙醚饱和的1 : 1盐酸清洗合并的乙醚萃取液两次，每次3毫升。将乙醚萃取液加至0.5毫升10%氯化钠溶液中并蒸发至干。取出残渣溶在3毫升0.2N盐酸中，加入2毫

升水，1毫升1：4氢氧化铵，1毫升5%硫脲溶液和6毫升0.2M邻苯二甲酸钾溶液，稀至18毫升。放置30分钟，加入2毫升0.1%试剂溶液和3毫升氯仿，静置30分钟，并再次摇荡1分钟，然后作荧光读数。

3. 荧光镓法⁽⁵⁾。

试剂又名5-氯-3-(2,4-二羟基苯偶氮)-2-羟基苯磺酸，其结构为：



它能与Ga形成络合物，在紫外线照射下发黄色荧光。

试剂使用时在含水介质中反应，反应在80℃时20分钟内完成。络合物可用异戊醇萃取，然后作荧光读数。此法灵敏度为0.1ppm。镍、钴、铬、锡、钛、钒和钨等有干扰。

5-氯-3-(5-己基-2,4-二羟基苯偶氮)-2-羟基苯磺酸，又名己基-荧光镓用以代替上述试剂。在PH 2.7—4时生成1：1络合物，可用甲基异丁基酮萃取，再作荧光读数。 $\lambda_{ex}493nm$ ， $\lambda_{em}580nm$ 。

硫化镉中镓的检测：

在5毫升盐酸中溶解0.5克样品，在硅坩埚中蒸发至干。将残渣溶于10毫升PH=2.4酞酸氢钾缓冲溶液中，加入0.2毫升0.01%试剂溶液，静置30分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}490nm$ ， $\lambda_{em}570nm$ 。用本底作参照。

氯化镉或硫酸镉中镓的测定:

在10毫升缓冲溶液中溶解0.5克样品, 然后按上述硫化镉中的操作手续进行。

生物样品中镓的测定:

1克样品与0.5毫升硫酸和0.5毫升硝酸一起煮沸。假如为了阻止炭化, 加入更多的硝酸。当棕色的烟几乎冒尽时, 加入0.25毫升过氯酸并加热直至无色以及三氧化硫冒烟逸出。取出放至5毫升1:1盐酸中, 离心, 如沉淀存在则用此酸清洗。稀释至10毫升, 通过交换柱(2.5×70毫米, 50—100筛目DOWex×—18钠型), 用20毫升1:1盐酸洗柱子。用10毫升1:11盐酸提取镓。在提取液中加入0.1毫升1%抗坏血酸溶液和0.1毫升0.25%硫代硫酸钠溶液。用16%碳酸钠溶液调节PH至2.25±0.05。小心操作, 不要使溶液成碱性。加入0.8毫升0.01%试剂的0.06N盐酸溶液。1小时后络合完成, 然后用3毫升异戊醇萃取。作荧光读数。 $\lambda_{ex}490nm$, $\lambda_{em}570nm$ 。此法可检测每毫升15ng镓。

4. 2—(2'—吡啶基)苯并咪唑法⁽⁶⁾。

试剂与镓形成荧光络合物而用于检测。

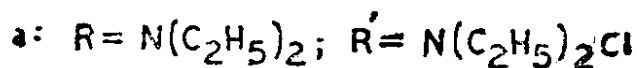
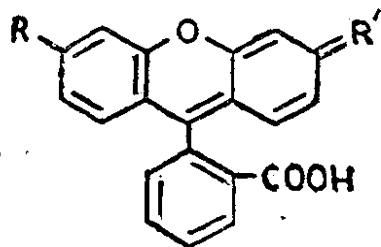
操作手续:

取10毫升样品溶液, 样品含量约为0.07—0.7微克/毫升, 加入1毫升50%醋酸铵溶液和1毫升25%苯钾酸钠溶液, 用乙酸乙酯分两次, 每次3毫升萃取镓和铟。在合并的萃取物中加入2毫升水和2滴0.1N盐酸, 蒸发除尽乙酸乙酯。加入0.5毫升PH=4.4的缓冲溶液和0.001M试剂溶液, 放置30分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}347nm$, $\lambda_{em}413nm$ 。

铈和铁离子的干扰, 可使其还原成亚铈和亚铁离子而加以避免。锡增强荧光, 钴、铜、镍、铂、银, 钼和硫离子熄灭荧光。

5. 罗丹明B法⁽⁷⁾。

试剂结构：



它与镓生成荧光螯合物，其组成为1分子 $GaCl_4^-$ 对1分子 RhB^+ 。最佳的盐酸浓度为4 M。然后用苯从盐酸溶液中萃取生成物，再作荧光读数。

铈中镓的检测：

用20毫升1 : 1 盐酸溶解样品，加入0.5毫升2 % 氯化钠溶液和0.1毫升5 % 氯化亚锡的1 : 1 盐酸溶液，用20毫升醋酸丁酯萃取3分钟，弃去水相，用6毫升1 : 1 盐酸分两次，每次3毫升洗有机相，再用15毫升、10毫升水反萃取镓。将萃取液合并，加入0.5毫升20 % 氢氧化钠溶液，在100℃蒸发至干。加入5毫升1 : 1 盐酸至残留物中，再加入0.1毫升5 % 氯化亚锡的1 : 1 盐酸溶液，2毫升苯，0.5毫升醋酸丁酯和0.6毫升0.5 % 罗丹明B的1 : 1 盐酸溶液。振荡2分钟，过滤提取液，作荧光读数。 $\lambda_{ex}560nm$, $\lambda_{em}580nm$ 。

可用三氯化钛代替氯化亚锡。

6. 吡啶橙NO法⁽⁸⁾。

试剂与镓(III)及氯离子能形成镓(III)——吡啶橙——

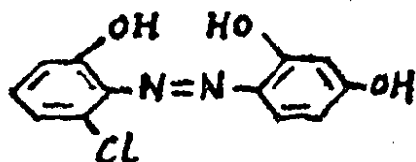
Cl⁻三元络合物。可用二氯乙烷从含有1N氯化钠的10—12N硫酸中萃取，然后作荧光读数。

硅酸铝或铝盐中镓的分析：

将1克矿物样品与碳酸钠一起熔融，并溶解在50毫升1：1盐酸中；如是铝盐，将样品直接溶解在50毫升1：1盐酸中。用50毫升醋酸丁酯萃取镓。用50毫升水从有机相中再萃取并浓缩到约10毫升。加入1.75毫升0.01%试剂溶液，1.75毫升盐酸和1.25毫升15%氯化亚锡的盐酸液，用1：1盐酸稀释至50毫升。取此溶液2.5毫升用1：1盐酸稀释至5毫升，如需要的话，用已知量的氯化镓溶液加强。再用6毫升二氯乙烷萃取1分钟，作荧光读数。 $\lambda_{ex}500nm$, $\lambda_{em}525nm$ 。

7. 4 (5-氯-2-羟基苯偶氮)间苯二酚法⁽⁹⁾。

试剂结构：



它与镓生成荧光络合物，用己醇萃取后作荧光测定。

硅酸盐中镓的分析：

将0.05克样品放入铂金坩埚中，用3毫升氢氟酸和1毫升1：1硫酸处理，蒸发至干。放入10毫升1：1盐酸中，加入10%氯化亚锡的1：1盐酸溶液直至得到淡紫色，冷却，用乙醚分三次萃取，第一次8毫升，第二、三次各3毫升，将萃取液合并，然后用乙醚饱和的1：1盐酸溶液分两次，每次3毫升清洗合并的萃取液，加入1毫升水至乙醚相中，蒸发至干。取此残渣溶于10毫升0.01N盐酸中，取此溶液2毫升整，与0.5毫升乙

醇，0.1毫升0.8mM试剂和2毫升0.2N醋酸混合，稀释至5毫升，然后用0.5毫升己醇萃取5分钟，再作荧光读数。

此法可检测至低于23ngGa/5 ml。

8. 甲基—8—羟基喹啉法⁽¹⁰⁾。

试剂与镓络合生成荧光产物，在紫外光照射下，会发蓝绿色荧光。

操作手续：

将1克样品放入250毫升烧杯中，加入20毫升20%氢氧化钠溶液和30%过氧化氢10毫升，加热使其溶解，冷却，用盐酸酸化，稀释至100毫升。取此溶液10毫升整，稀释至40毫升，加入1毫升1%2—甲基—8—羟基喹啉和5毫升20%醋酸铵溶液。再用1:11盐酸调节PH至3.9。用氯仿分三次，每次10毫升萃取。用氯仿稀释萃取液至50毫升，用硫酸钠干燥，然后作荧光读数。荧光峰495nm。

此法测定范围为0.02—0.6微克镓/毫升萃取液。

铟、铊、铜，钒酸根等离子有干扰。

9. 罗丹明S法⁽¹¹⁾。

试剂与镓的络合物可用有机溶剂萃取而用于荧光读数。此法比用罗丹明6G法更灵敏。

硅酸盐和铝土矿中Ga的测定：

用3毫升1:1硫酸和5毫升盐酸处理0.25克样品，蒸发至干，加入2克过硫酸钾并熔融成透明的熔块。然后溶于1:1盐酸中，并用该酸稀释至25毫升。取此溶液2毫升整，与0.2毫升15%氯化亚锡的1:1盐酸溶液混合并加热至沸腾。让它冷却并再次加热至沸。冷却，加入0.5毫升15%氯化亚锡的1:1盐酸溶液，0.4毫升0.5%试剂的1:1盐酸溶液和3毫升1:66乙醚—苯。摇荡，分离萃取液，作荧光读数。

硫化物矿中镓的测定：

加15毫升1 : 1 盐酸至0.5克样品中，逐渐加热至100℃并沸腾10分钟，加入5毫升硝酸，沸腾直至气泡蒸发掉。蒸干，加入3毫升盐酸，再蒸干，重复最后两步。然后完全按上面硅酸盐中镓的测定：“溶于1 : 1 盐酸中，……”的步骤进行。

10. 磺基萘酚间二酚法⁽¹²⁾。

试剂与镓形成络合物，此法适用于半导体矿物中镓的荧光分析。

硅中镓的分析：

将1克样品用3毫升硝酸和10毫升盐酸溶解，加热蒸发至干。加入2毫升1 : 2 硫酸和40毫克硫酸钠，蒸发至干，然后在700℃加热30分钟。用2毫升1 : 1 硫酸和1毫升氢氟酸浸湿，再蒸干。将残渣溶于10毫升1 : 1 盐酸中，并加入1毫升10%氯化亚锡的1 : 1 盐酸溶液以还原铁。用乙醚分两次，每次5毫升萃取。用5毫升1 : 1 盐酸洗萃取液，将萃取液与1毫升2%氯化钠溶液一起蒸发。然后将残渣溶于0.2毫升0.2N盐酸中，且加入1毫升水。用0.1毫升单氯乙酸缓冲溶液调节PH=3。加入0.2毫升10%硫酸羟胺溶液，2毫升乙醇和0.2毫升0.1%试剂乙醇溶液，再作荧光读数。

四氯化硅中镓的测定：

将1毫克样品与2毫升水混合，加热蒸干，然后按上法“加入2毫升1 : 2 硫酸……”步骤操作。

硅石(SiO₂)中镓的测定：

在15毫升盐酸中溶入1克样品，加热蒸干，然后按上法中“加入2毫升1 : 2 硫酸……”的步骤操作。

伴中镓的测定：

将1克样品溶于5毫升1 : 1 盐酸中，加热蒸干。取出残渣放入5毫升水中，加入2毫升25%碳酸铵溶液，并加入1 : 1 氢氧化铵至PH=9。然后将它通过EDE-10P碳酸盐形的阴离子

交换柱，先用25%碳酸铵溶液，后用水淋洗柱子，将提取液蒸干，以下完全按硅中镓的分析中“将残渣溶于10毫升1:1盐酸中并加入……”的步骤操作。

11. 5, 7-二溴-8-羟基喹啉法⁽¹³⁾。

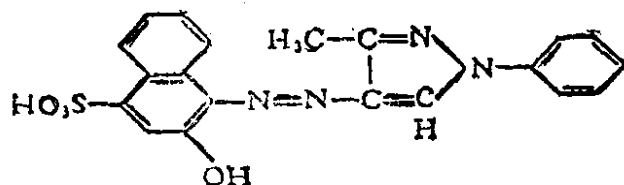
它与镓的络合物可用氯仿萃取，在紫外线照射下发绿色荧光。荧光峰650nm。

操作时镓必须用乙醚萃取分离以避免由铜、锌、铝和钨造成的干扰。

此法灵敏度为0.2微克/毫升。能用以金属铝中镓的检测，在硅酸盐中的镓也能用此法检测。

12. 羊毛铬红B法⁽¹⁴⁾。

试剂结构：



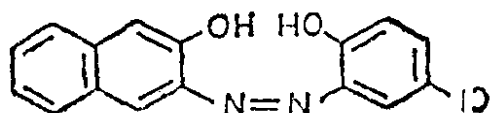
它在PH 3—3.9时，与镓形成1:2络合物，在紫外线照射下会发生黄绿色荧光。荧光峰575nm。在70—80℃加热10分钟并稳定2小时，荧光达最大值。

此法测定范围为0.02—0.6微克镓/毫升。

铝、铁、铈、钛、 VO_3^- 、 $Gr_2O_7^{2-}$ 、 MnO_4^- 等离子有干扰，在加入盐酸羟胺还原铁离子及用乙醚萃取 $GaCl_3$ 后，它们的干扰可以消除。

13. 1-(5-氯-2-羟基苯偶氮)-2-萘酚法⁽¹⁵⁾

试剂结构:



它在PH 3—4时, 与镓生成带正电荷的 1 : 1 荧光络合物, 在PH 6—7条件下, 它与镓生成中性的 1 : 2 无荧光络合物。各自的吸收峰为538nm及570nm, 前一反应可用于荧光检测镓。

14. 水杨醛乙酰胂法⁽¹⁶⁾。

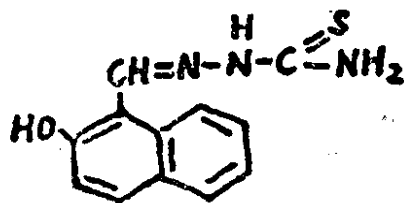
试剂与镓离子在NaClO₄饱和溶液中所生成的化合物可用异戊醇萃取, 萃取液在紫外光照射下会发生蓝色荧光, 荧光峰450nm。

此法测定范围为0.07—4.5微克镓/毫升。

钪、铝、铟等离子在同样条件下也会发生荧光, 铜、铁等离子会使荧光熄灭。

15. 2-羟基-1-萘(甲)醛-硫代缩氨基脲(HNT)法。

试剂结构:



它与Ga³⁺离子形成一种会发生蓝色荧光的螯合物， $\lambda_{ex}412\text{nm}$ ， $\lambda_{em}470\text{nm}$ 。

方法的测定范围约为0.03—0.7微克镓/毫升。

铜、镍、铬、铁等离子有干扰。

16. 3, 4', 5, 7—四羟基黄酮法⁽¹⁸⁾。

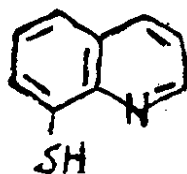
在PH 3—4的醋酸钠—盐酸缓冲溶液中，用试剂的25%乙醇溶液可作镓的荧光检测。 $\lambda_{ex}355—365\text{nm}$ ， $\lambda_{em}485—495\text{nm}$ 。一小时后荧光达最大值，三小时内荧光强度不变。

此法灵敏度可达每10毫升中2 ng镓。

等量的铋、铬、锰、镁、钡、锶、铁、铈等离子不干扰。

17. 8—巯基喹啉法⁽¹⁹⁾。

试剂结构：



它与镓生成1 : 1络合物，可用甲基异丁基酮萃取后作荧光测定。 $\lambda_{ex}395\text{nm}$ ， $\lambda_{em}505\text{nm}$ 。

此法可用于铝中镓的分析，镓可从7 N盐酸中用异丙醚萃取以避免由锌、镉、铜、镍和钴造成的干扰。遵守比尔定律的浓度范围：0.1—3'微克镓/毫升。

18. 栎精—3'—糖甙法⁽²⁰⁾。

镓与试剂生成1 : 1络合物。试剂可用热甲醇从棉花中萃取得到。操作时，用PH 2.8—3.6的醋酸盐作缓冲溶液。 $\lambda_{ex}415—425\text{nm}$ ， $\lambda_{em}550\text{nm}$ 。遵守比尔定律的浓度范围。0.14—4.2微

克镓/25毫升。铝、钛和锌有干扰，仅允许10倍量的铟存在。

19. 罗丹明C法⁽²¹⁾。

罗丹明C的紫色溶液，有强的橙黄色荧光，它与镓的络合物可用以荧光检测。此法灵敏度为每毫升0.1—1.1微克。钇、金、铈、铊有干扰，在亚钛离子存在下用苯萃取可从绝大多数干扰物中分出镓。

20. 搔洛铬紫酱红法⁽²²⁾。

试剂能与镓络合而用于荧光测定。

操作手续：

在镓的样品溶液中，加入0.01%试剂溶液，如镓含量在5微克左右，加入试剂量为0.8毫升；如镓含量较大，加入试剂量为1.7毫升。然后加入2毫升20%醋酸铵溶液并调节PH至3，再稀释至25毫升后作荧光读数。 $\lambda_{ex}485nm$ ， $\lambda_{em}565nm$ 。

铝、钴、铜、铁、锆、钒、钼、铬等离子有干扰。

21. BPKPH法⁽²³⁾。

试剂与镓形成1:1螯合物，在90%乙醇中可作荧光检测。 $\lambda_{ex}469nm$ ， $\lambda_{em}545nm$ 。

BPKPH的制备：

将等克分子量的苄基—2—吡啶基酮和2—胍基吡啶在50—60℃回流6小时。在反应物冷却后，将它放置冰箱中，短时间后析出棕色结晶。过滤，洗涤，重新溶在乙醇中，再冷却得棕色结晶，熔点114—115℃。

将合成的产品配成 $5 \times 10^{-4}M$ 绝对乙醇液，即为试剂贮存液。

缓冲溶液的配制：将50毫升0.1M的钛酸氢钾溶液和8.2毫升.1M盐酸混合，再用去离子水稀释至100毫升，使PH=3.5。

操作手续：

精确取1毫升样品溶液（PH3—5，含0.07—17.5微克

镓)，放至50毫升容量瓶中，加入BPKPH溶液使在最终溶液中试剂含量为 10^{-6} — 10^{-5} M，然后加入4毫升缓冲剂，用乙醇稀至刻度，作荧光读数。 $\lambda_{ex}469\text{nm}$ ， $\lambda_{em}545\text{nm}$ 。

此法灵敏度为1.4ppb。

22. 其它方法。

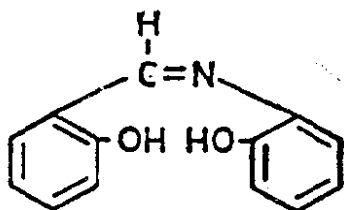
镓的荧光分析法还曾报导有：

8-羟基喹啉法⁽²⁴⁾。它可与镓络合生成荧光产物，灵敏度可达0.02ppm。

桑色素法⁽²⁵⁾。它与镓生成黄绿色络合物，在紫外线照射下产生强荧光。在PH=3.6时荧光达到最大值。

罗丹明6G法⁽²⁶⁾。试剂能与镓在6N盐酸中形成Ga(III)—罗丹明6G—Cl⁻三元络合物，产生荧光而用于检测。 $\lambda_{ex}537\text{nm}$ ， $\lambda_{em}550\text{nm}$ 。罗丹明4G可用于代替罗丹明6G，其 $\lambda_{ex}557\text{nm}$ ，荧光 $\lambda_{em}572\text{nm}$ 。灵敏度可达0.1ppm。

水杨叉替—邻—氨基酚法⁽²⁷⁾。试剂结构为：



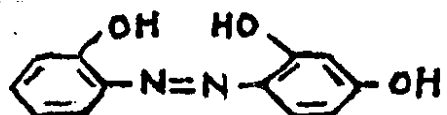
在PH4的醋酸盐缓冲溶液中，与镓螯合，可用于荧光读数。灵敏度为0.1ppm。

搔洛铬黑AS、红ERS或6BFA法⁽²⁸⁾。试剂都能与镓络合成荧光产物。使用第一种试剂时，最佳PH为4.7，灵敏度可达0.05毫克/5毫升。

亮茜素蓝G法⁽²⁹⁾。在酸性或碱性介质中，试剂与镓生成络合物，产生红—橙色荧光。铝和钪也有类似反应。

羊毛铬蓝黑R法⁽³⁰⁾。在PH 3—4时，镓与试剂生成带正电荷的1 : 1 荧光络合物；在PH 6—7时，生成中性的1 : 2 无荧光络合物。各自的吸收峰为570nm和590nm。

4—(2—羟基苯偶氮)间苯二酚法⁽³¹⁾。试剂结构为：



在PH=3 左右与镓络合成荧光产物， $\lambda_{ex}485nm$ ， $\lambda_{em}575nm$ 。

水杨内酯氨基安替比林法⁽³²⁾。在PH 3—4 时，镓能与试剂络合，荧光峰为505nm。在5 毫升溶液中，可检测5 ng 镓。

2', 2, 4'—三羟基—5'—氯苯—3'—磺酸法⁽³³⁾。此法可检测镓至0.001 微克/毫升。

安替比林—栎精法⁽³⁴⁾。试剂可与镓生成三元络合物镓(III)—安替比林—栎精，用氯仿从pH5.0+高氯酸钠中萃取， $\lambda_{ex}369nm$ ， $\lambda_{em}509nm$ ，此法灵敏度为0.05—0.5 微克/毫升。铝、铜、钴、铁、铈有干扰。

参考文献

1. A. Lukin and E. A. Bozhevov, J. Anal. chem. USSR (English Transl) 15, 45 (1960).
2. E. B. Sandell Anal chem 19, 63 (1947),
3. J. Collat and, L. Rogers, Anal. Chem. 27, 961—(1955).
4. R. Keil, Z. Anal. Chem., 249, 172—174 (1970).

5. N. B. Lebed and R. P. Pantaler, Zh. Anal. Khim., 20, 59—61 (1965); M. A. Matveets and D. P. Shcherbor, Issled. Razrab. Fotometrich. Metod. Opred. Mikrokolichestv. Elem. Miner. Syr'e, 1967, 122.
6. L. S. Bark and L. Rixon, Anal. Chim. Acta, 45, 425 (1969).
7. M. A. Matveets and D. P. Shcherbov, Zh. Pril. Spekt., 2(2), 111—114 (1965).
8. V. M. Tarayan, E. N. Ovsepyan and A. N. Pogoyan, Arm. Khim. Zh., 23, 410—413 (1970); 24, 865—870 (1971); 25, 931—935 (1972).
9. Lian Ngog Thu, *ibid*, 22, 636—637 (1967). Lian Ngog Thu, R. M. Dranitskaya and V. A. Nazarenko, Ukr. Khim. Zh., 34, 186—189 (1938).
10. Tsunenobu Shigematsu, Jap. Anal., 7, 787—788 (1958).
11. P. I. Vasil'ev, R. L. Podval'naya and M. A. Vovonkova, Mineral. Syrya, Mosk., sb. 1960(1), 302—306.
12. V. A. Nazarenko, S. Ya. Vinkovetskaya and R. V. Ravitskaya, Ukr. Khim. Zh., 28, 726—728 (1962).
13. G. Beck, Mikrochim. Acta 47 (1939).
14. Yasharu Nishikawa, Jap. Anal., 7, 549—553 (1958).
15. V. A. Nazarenko, Liam—Ngog—Thu and R. M. Dranitskaya, Zh. Anal. Khim., 22, 518—524 (1967).

16. H. Zavis, *Microchem. J.*, 9, 288(1965).
17. Cf. 陈国珍《荧光分析法》, p. 157(1975).
18. Z. T. Maksimycheva, Sh. T. Talipov, Z. P. Pakudina and A. S. Sadykov, *Izv. vyssh. Uch. Zaved Khim. Tekhnd.*, 17, 348—351(1974).
19. Kunihiro Watanabe and kyozo kawagaki, *Bull. Chem. Soc. Jap.* 48, 1812—1815(1975).
20. Sh. T. Talipov, Z. T. Maksimycheva, Z. P. Pakudina and A. S. Sakykov, *Izv. Vyssh. Ucheb. Zaved. Khim. Tekhnol.*, 16, 1154—1156(1973).
21. D. P. Shcherbov and A. I. Ivunkova, *Zavod. Lab.*, 24, 667—674(1958).
22. Keizo Hiraki, *Bull. Chem. Soc., Jap* 45, 1395—1399 (1972).
23. J. J. Laserna, A. Nava sand F. Garcia-Sanchez, *Anal. Chim. Acta* 121 (1980), 295—300.
24. M. Ichihashi, T. Shigematsu and T. Nishikawa *J. Chem. Soc. Japan*, 78, 1139(1957).
25. A. I. Buser and E. P. Shkrobot, *Vest. Mosk. Univ., Ser. Mat., Mekh., Astronal, Fiz. Khim.*, 14 (4), 199—207 (1959).
26. D. P. Shcherbov, I. Solovyan and A. Droba chenko, *Tezisy dokladov 6-go soveshchaniya Lyu ministentu, Leniu, grad*, 1958.
27. V. Patrovsky, *Chem. Listy*, 48, 537(1954).
28. G. Oshima, *Japan Analyst*, 7, 549 (1958).
29. Keizo Hiraki, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 45, 789—793 (1972).

30. V. A. Nazarenko, Liam—Ngog—Thu and R. M. Draniskaya, Zh. Anal. Khim. 22, 518—524 (1967).
31. Keizo Hiraki, Bull. Chem. Soc. Jap., 46, 2438—2443 (1973).
32. Sh. T. Talipov, A. T. Tashkodzhaev, L. E. Zelter and Kh. Khikmatov, Izv. Vyssh. Ucheb. Zaved., Khim Khim Tekhnol 15, 1109—1110 (1972).
33. E. A. Bozhevoinov, Oesterr. Chemik.-Z. 66, 74 (1965).
34. Н. О. Пеньвиц и др., ЖАХ., 28, 2162 (1973).

第七节 铟、铊的荧光分析

一、铟的荧光分析

(一) 概述。

在铟的荧光分析中，最实用的试剂是各种罗丹明染料。如罗丹明B，罗丹明3B，罗丹明6G，罗丹明6zh，罗丹明zv、4zh等，被广泛用于各种矿中铟的测定。它们在溴、氯离子存在下，与铟离子形成三元络合物，用有机溶剂萃取后可进行荧光强度测定。

能与铟络合生成荧光化合物的试剂有8-羟基喹啉，8-羟基喹哪啶，2-(2'-吡啶基)苯并咪唑，焦宁G等，方法灵敏度均在微克数量级。

(二) 分析方法.

1. 8-羟基喹啉法⁽¹⁾.

铟与试剂可生成络合物, 在紫外线照射下发黄绿色荧光.

操作手续:

在含铟的溶液中加入1毫升1% 8-羟基喹啉的1N盐酸溶液, 然后加入2毫升20%醋酸铵溶液, 稀至50毫升, 并用氢氧化铵调节PH至7.5. 用苯分三次, 每次10毫升萃取. 稀释萃取液至50毫升, 过滤, 再作荧光读数. 荧光峰526nm.

此法灵敏度为0.2ppm.

2. 2-(2'-吡啶基)苯并咪唑法⁽²⁾.

铟与试剂可形成荧光络合物.

操作手续:

在含有0.11—10微克铟的样品溶液中, 加入1毫升50%醋酸铵溶液作缓冲剂和1毫升25%硼酸钠溶液. 用乙酸乙酯分两次, 每次3毫升萃取2分钟. 合并萃取液, 加入含有2滴0.1N盐酸的水2毫升, 然后蒸掉溶剂. 残留的水相中含有铟. 再加入0.5毫升PH=5.2的缓冲溶液和0.5毫升 10^{-4} M的试剂. 静置30分钟后作荧光读数. $\lambda_{ex}335\text{nm}$, $\lambda_{em}411\text{nm}$.

在干扰离子存在下, 此法可检测铟至纳克范围.

试剂与镓和锌也产生荧光. 钴、硒、铜、铁、汞、镍、铂、钡、银、钼酸盐离子和硫化物熄灭荧光. 镉增强荧光. 铁和硒可还原成低价而避免干扰.

3. 罗丹明B法⁽³⁾.

罗丹明B与 InBr_4^- 的络合物可从3—6N硫酸中用苯萃取, 再与2N溴化钾和5%丙酮一处作荧光读数. $\lambda_{ex}560\text{nm}$, $\lambda_{em}580\text{nm}$.

锡石(SnO_2)中铟的测定:

将0.2克样品加至玛瑙研钵中, 与5克1:1碳酸钠—四硼

各种钼的荧光分析方法的灵敏度为：

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
8-羟基喹哪啶	荧光络合物	0.2
2-(2'-吡啶基)苯并咪唑	荧光络合物	0.1
罗丹明B	三元络合物	0.1
罗丹明3B	三元络合物	0.02
罗丹明6G	三元络合物	0.1
罗丹明6Zh	三元络合物	0.1
罗丹明Zv	三元络合物	0.1
丹罗明4Zh	三元络合物	0.2
3,4',5,7-四羟基黄酮	荧光络合物	5.7
8-羟基喹啉	荧光络合物	0.04
桑色素	荧光络合物	0.003
焦宁G	荧光络合物	10

酸钠一起研磨。然后装入铂金坩埚中，面上覆盖一层碳酸钠—四硼酸钠混合物。缓慢加热直至熔融开始，然后保持在此温度加热15分钟，用50毫升水滤取熔块，过滤。加入60mg氯化铁，稀至60毫升，加热至沸。在粗糙的滤纸上过滤，收集块状沉淀，用5%氢氧化钠将沉淀洗三次，然后用热水洗两次。用5毫升热的1:1盐酸淋洗坩埚，并用此酸溶解滤纸上的沉淀，蒸发至干。为了转化成溴化物，加入4ml氢溴酸和4毫升溴水并蒸发至干。重复这一步骤。取出残渣溶于12毫升5N氢溴酸中并加入足够的硫代硫酸钠溶液以还原铁离子。用5N氢溴酸饱和的乙醚萃取三

次，每次12毫升，两分钟。合并萃取液，用5 N氢溴酸洗两次，每次2毫升。再用2毫升乙醚萃取洗液，并将它合并至上述乙醚提取液中。再用1：1盐酸分两次，每次15毫升（其中加入2滴30%过氧化氢从乙醚相中反萃取铟。蒸发萃取液至干，加入1毫升5 N氢溴酸和1毫升溴水，再次蒸发至干。将残渣溶于2毫升2 N氢溴酸中，加入2滴10%抗坏血酸溶液和2滴0.2%罗丹明B溶液，用2 N氢溴酸稀至10毫升。加入3毫升苯和1毫升乙醚并摇荡，将萃取液作荧光读数。

4. 罗丹明3 B法⁽⁴⁾。

铟与罗丹明3 B（碱性紫11）的络合物可用于荧光读数。

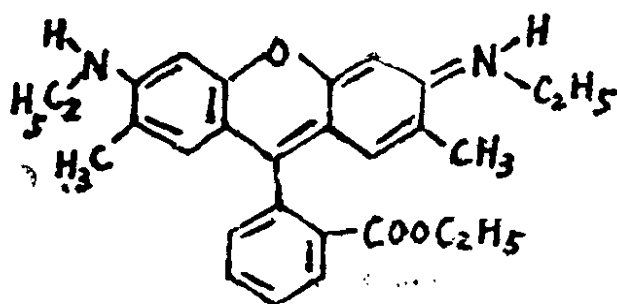
操作手续：

将0.5毫升样品的1—6 N硫酸溶液，用24%溴化钾溶液稀释至7毫升。然后加入2毫升2：1硫酸和1毫升罗丹明3 B溶液（浓度为1毫克/毫升）。再用5毫升苯萃取，最后将萃取液作荧光读数。 $\lambda_{ex}565nm$ ， $\lambda_{em}588nm$ 。与本底读数对照。

此法线性浓度范围为每毫升萃取剂中含0.02—0.6微克铟。

5. 罗丹明6 G法⁽⁵⁾。

试剂结构：



它与铟的络合物能用苯从0.3M氢溴酸—10N硫酸中萃取而用于荧光读数。

砷化铟中铟的测定操作如下：

在10毫升1 : 1 盐酸中溶解1克样品，在溶液中滴入硝酸，蒸发至干。将残渣溶于5 ml 1 : 1 HBr中，再次蒸发至干。再溶于2 N 氢溴酸中，并用此酸稀释至一定体积，使铟的含量为每毫升约0.5微克。取此溶液2毫升，与0.5毫升0.1%罗丹明6 G溶液和5毫升1 : 1 硫酸混合，用5毫升苯萃取，将萃取液用于荧光读数。

含锡样品中铟的测定：

萃取剂的配制：在150毫升辛烷中用75克五氧化二磷在65℃处理150毫升6-甲基-庚醇或辛醇2小时。冷却后加入500毫升辛烷，用125ml水洗，然后用125毫升1 : 35硫酸分几次洗，直至不再显磷酸根离子为止。

将1克样品与7克过氧化钠和0.1克氧化镁一起慢慢加热升高温度至700℃熔融。维持在700℃8分钟，冷却，将熔融物溶于60毫升水中并过滤，用2%氨的硫酸铵溶液洗残渣，并弃去滤液及清洗液。将偏锡酸溶于30毫升1 : 8 硫酸中，逐滴加入10%抗坏血酸溶液，通常需1—2毫升，直至用硫氰酸盐在滤纸上试验显粉红色。

将样品溶液与30毫升有机萃取剂一起摇荡，假如成乳浊液状，加入10毫升2%氟化铵溶液。弃去水相，用20毫升1 : 35硫酸分两次洗有机相。再用5 : 1 氢溴酸分三次，每次2毫升从有机相中反萃取铟。合并萃取液并稀释至25毫升。取此液分一份（内含约10微克铟）与1毫升1%罗丹明6 G溶液，10毫升1 : 1 硫酸，1毫升10%抗坏血酸溶液，10毫升苯和几滴硫酸亚钛溶液萃取一分钟。分出有机相作荧光读数。

6. 罗丹明6zh法⁽⁶⁾。

铟与试剂能形成络合物而用于荧光检测。

在镓中铟的测定操作手续：

用0.8M氢溴酸溶解1克镓(内含约4微克铟)样品,并用此酸稀释至25毫升。用磷酸三丁酯饱和样品溶液,将它以每2秒1滴的速度通过色层柱(在150×4毫米的色层柱中装入100毫米高的粉末状聚四氟乙烯,用磷酸三丁酯悬浮)。然后用30ml 0.8M氢溴酸提取。收集最后2毫升提取液,在其中加入0.5毫升0.6mM罗丹明6zh, 0.5毫升7.4M氢溴酸, 3.5毫升10M硫酸, 1毫升水和5毫升苯,混匀,分出有机相直接用于荧光读数。

7. 罗丹明zv法⁽⁷⁾。

铟与试剂能形成络合物,用苯萃取后作荧光检测。

矿物样品中铟的检测方法:

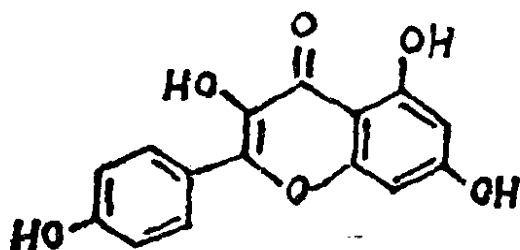
在冷的条件下用10毫升硝酸和5毫升盐酸处理0.1克样品,然后在100℃加热2小时并蒸发至近干。加入5毫升氢溴酸,蒸发至干,但不结块。再次加入5毫升氢溴酸,蒸发至干。将残留物放至5毫升5N氢溴酸中并泌出上层水层。加入5ml 5N HBr至残余物中并灰化,再加入5毫升5N氢溴酸,倒出上层清液至已经得到的泌出液中。用10毫升醋酸丁酯萃取,用氢溴酸分两次,每次5毫升洗有机萃取剂。再用2:1的盐酸分两次,每次10毫升从有机相中反萃取铟。在水萃取液中加入2.5毫克三氯化铁($6H_2O$)以作收集剂,5毫升1:1硫酸和1毫升30%过氧化氢蒸发至三氧化硫冒烟。如残余的有机物变黑,加入更多的过氧化氢和水,并再次蒸发至三氧化硫冒烟。用40毫升水提取残渣并用氢氧化铵调节至碱性。过滤,并用1:400氢氧化铵洗涤。用5毫升2.5N氢溴酸溶解沉淀并用5毫升此酸洗滤纸。在滤液中加入0.2克抗坏血酸以还原铁离子,放置2小时,过滤并加入2滴0.1%罗丹明ZV溶液。用苯萃取络合物,将萃取剂用于荧光读数。

8. 罗丹明4zh法⁽⁸⁾。

试剂能在 8—9.5N 硫酸和 0.2—0.5M 氢溴酸中与铟络合，然后用苯萃取作荧光检测罗丹明 3 zho，罗丹明 G 也能用。

9. 3, 4', 5, 7—四羟基黄酮法⁽⁹⁾。

试剂结构：



它与In络合，产物显黄绿色荧光。

操作方法：

将样品溶液与试剂溶液在40%乙醇中反应，用己胺缓冲液调节PH至5.9—6.3，产物显黄绿色荧光。 $\lambda_{ex}366\text{nm}$, $\lambda_{em}555\text{nm}$ 。

此法灵敏度为5.7微克/毫升。

容许等量的镍、钼、锆、磷酸盐或硫脲存在。

10. 其它方法。

铟的荧光检测方法还报导过：8—羟基喹啉法⁽¹⁰⁾。铟与8—羟基喹啉的络合物，用氯仿萃取，在紫外光照射下发黄绿色荧光。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{ex}535\text{nm}$ 。方法灵敏度为0.04ppm。

桑色素法⁽¹¹⁾。在PH4.3—4.7时，铟能与试剂及安替比林，过氯酸根离子形成1 : 1 : 4 : 2的络合物。它可被氯仿萃取用以荧光读数。荧光峰520nm。此法灵敏度为3 ng/ml。铁离子可用硫脲掩蔽。

焦宁Y法⁽¹²⁾。此法灵敏度可达10—100ppm。

二、铊的荧光分析

(一) 概述。

铊的荧光分析，主要是通过形成三元络合物的方法来检测。铊离子能与罗丹明B+Br⁻ (Cl⁻)、吖啶橙+Cl⁻，形成三元络合物，Tl⁺离子能与罗丹明6ZH+Cl⁻形成三元络合物。产物用有机溶剂萃取后可用于荧光读数。铊离子还能与结晶紫—丁基罗丹明B+Cl⁻形成多元络合物而用于荧光测定。

铊还能催化氧化1,4—二氨基—2,3—二氢蒽醌而产生强的绿色荧光产物，此法检测灵敏度可达0.05ppm。

(二) 分析方法。

1. 罗丹明B法⁽¹³⁾。

铊离子的氯化物或溴化物，和罗丹明B的反应产物的苯溶液呈红色，在紫外光照射下会发生橙红色荧光。

试剂的配制

将罗丹明B溶于3.5M盐酸溶液中，配成0.1%。

操作手续（在硅酸盐及海洋沉积物中铊的测定）：

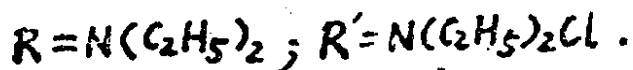
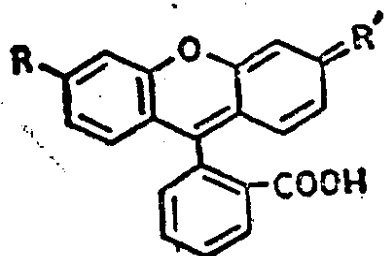
将含有0.05—1.5微克铊的硅酸盐或海洋沉积物试样于50毫升的聚四氟乙烯烧瓶中，加入10毫升氢氟酸和5毫升浓硝酸，在水浴上加热过夜。次日在水浴上蒸发去酸，用10毫升浓硝酸分两次蒸干残渣，用铂棒不断搅拌，加6.5M盐酸两次蒸干以便除去硝酸根离子。

加7.7毫升6.5M盐酸和20毫升水于残渣上，温热至全部溶解。用蒸馏水稀释至500毫升，加5毫升饱和的溴水。让此溶液通过阴离子交换树脂柱（DeaiditeFF树脂，50—100筛目，柱高7.5厘米，截面积0.3厘米²），流速不超过3毫升/分。先后用350毫升0.5M硝酸、250毫升0.5M盐酸、25毫升水洗去干扰元素，

铊的几种荧光分析法的灵敏度比较如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
罗丹明B	三元络合物	0.0002
罗丹明 6 ZH	三元络合物	0.01
吖啶橙	三元络合物	0.05
氯离子	荧光络合物	0.05
结晶紫—丁基罗丹明B	多元络合物	0.02
1,4—二氨基—2,3—二氢蒽醌	催化	0.05

试剂结构：



弃去洗出液。然后用35毫升饱和的二氧化硫水溶液把铊洗下，洗出液收集于石英烧杯中，加1毫升6.5M盐酸，在水浴上蒸至约15毫升，在温热时加4毫升溴水以便氧化剩余的二氧化硫冷却，加3毫升溴水，将溶液转移至50毫升的分液漏斗中，用5毫升0.3

0.3M HCl 洗涤烧杯并转入同一分液漏斗中。用15毫升重蒸馏过的乙醚分几次萃取，用5毫升0.3M HCl分两次洗涤乙醚萃取液，移出乙醚萃取液于含有5毫升2.7M盐酸的石英烧杯中，慢慢温热蒸去乙醚，加1毫升溴水把铊(I)氧化为铊(III)，温热除去过量溴水(温度不超过70℃)，将溶液转移到50毫升分液漏斗中，用5毫升2.7M盐酸洗涤烧杯壁，并入同一分液漏斗中，加入2毫升试剂，混合，用5毫升苯萃取1分钟。将萃取液作荧光读数。 $\lambda_{ex}365nm$, $\lambda_{em}580nm$ 。

此法可检出0.2ppb铊。

注意事项：

金、锑、铁、钨酸根等离子对此法有干扰，可用二硫脲—氯仿萃取法使铊离子和这些干扰离子分离⁽¹⁴⁾。

2. 罗丹明6ZH法⁽¹⁵⁾。

一价铊离子能与试剂络合生成荧光产物。

铊混合物中铊的测定，操作手续如下：

混合物用1:1盐酸(盐酸中加入少量硝酸)溶解，将溶液蒸发至近干。然后将残渣溶于1N盐酸中。取一份溶液用2N氢溴酸稀释至每毫升溶液中约含0.5—1微克铊。取此溶液1毫升，将它与5毫升1:1硫酸，1毫升2N氢溴酸，和0.5毫升40%溴化钾溶液混合，加入0.5毫升三氯化钛溶液将铊还原成单价形式。10分钟后，加入1毫升0.1%罗丹明6ZH溶液，然后用5毫升苯萃取30分钟。萃取物在4分钟后用于荧光读数。荧光峰570nm。

3. 吡啶橙法⁽¹⁶⁾。

在PH0.8—2.5时，氯铊离子与吡啶橙络合，生成Tl(III)—吡啶橙—Cl⁻三元络合物，可用于荧光检测。

操作时，产物可用乙酸丁酯萃取，然后作荧光读数。荧光峰520nm。

此法灵敏度可达每毫升萃取剂中含3 ng—6 μg铊。

注意事项:

由汞、金离子产生的干扰,可用放入铜丝使其镀在上面而加以避免。铟的干扰,可预先用乙酸丁酯从1:3盐酸中萃取掉。

铊(Ⅲ)也能与吖啶黄(y)及氯离子,在PH0.4—1.0的盐酸中形成(Ⅲ)—吖啶黄(y)—Cl⁻三元络合物,用二氯乙烷萃取后作荧光读数。荧光峰495nm。铊(Ⅲ),金(Ⅲ),汞(Ⅱ),硝酸根有干扰。此法灵敏度为0.05μg/10ml⁽¹⁷⁾。

铊(Ⅲ)还能与吖啶黄(f)及氯离子,在PH1.5—1.7的盐酸中形成Tl(Ⅲ)—吖啶黄(f)—Cl⁻三元络合物,用二氯乙烷萃取后作荧光读数。荧光峰490nm。干扰同上。此法灵敏度为0.025—5.0μg/10ml⁽¹⁸⁾。

4. 氯离子法⁽¹⁹⁾。

铊与氯离子一起时,在紫外线激发下会发生紫色荧光。

操作时,为了除去干扰,可用过氧化氢先将一价铊氧化成三价形式,然后从1:5盐酸中萃取铊。然后蒸去乙醚,溶在3.3N盐酸中,加0.8N氯化钾通入二氧化硫以还原铊(Ⅲ)为铊(I),除去过量的二氧化硫后作荧光读数。 $\lambda_{ex}250nm, \lambda_{em}430nm$ 。

荧光线性范围为低于0.05微克/毫升。

5. 结晶紫—丁基罗丹明B法⁽²⁰⁾。

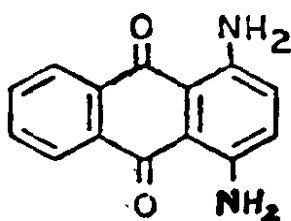
铊与试剂形成多元络合物而用于荧光检测。

操作时,将铊(Ⅲ)试液与磷酸(1:7)+Cl⁻+结晶紫溶液混合,用苯萃取。在苯萃取液中加入丁基罗丹明B的12N硫酸,一起摇荡,形成铊(Ⅲ)—结晶紫—丁基罗丹明B—Cl⁻多元络合物,作荧光读数。 $\lambda_{ex}360nm, \lambda_{em}595nm$ 。

此法灵敏度为0.02—1.6微克/6毫升。

6. 1,4—二氨基—2,3—二氢蒽醌法⁽²¹⁾。

试剂结构：



试剂在中性或微酸性介质中产生黄色荧光 ($\lambda_{ex}475$, $\lambda_{em}550nm$)，在铈(Ⅲ)存在下，能催化氧化试剂而产生强的绿色荧光。

试剂配制：

a. 将试剂溶于乙醇中，配成 $4 \times 10^{-4}M$ (0.1克/升)。

b. PH=3.4 盐酸—酞酸氢钾缓冲剂。

操作手续：

在50毫升烧瓶中，加入0.2毫升试剂a，2毫升缓冲剂b和适当体积的铈(Ⅲ)溶液(铈的最终浓度约为0.05—0.4ppm)。如需要的话，在加入铈(Ⅲ)后加入一些去离子水，使最终体积达4毫升(事先均需 在 $20 \pm 1^\circ C$ 恒温)，然后测荧光。 $\lambda_{ex}400nm$, $\lambda_{em}470m$ 。

此法检测灵敏度为0.05—0.4ppm。

注意事项：

金(Ⅲ)，铁和铈(Ⅳ)有干扰。

参考文献：

1. N. Shinagawa, H. Imai and H. Sunabala, J. Chem. Soc. Japan, 77, 1479 (1956).
2. L. Bark and L. Rixon, Anal. Chim. Acta,

- 45, 425 (1969).
3. A.K.Babko and Z.I.Chalya, Zh.Anal.Khim., 18, 570—574, (1963).
 4. Ya.Glovadsku, A.P.Golovina, L.V.Levshinand Yu.A.Mittsel', Zh.Anal.Khim., 19, 693—696 (1964).
 5. T.B.Vesene, Zavod.Lab., 35, 32—33 (1969).
 6. I.M.Ivanova and N.B.Zorov, Vest.Mosk. Gos.Univ., Ser.Khim., 15, 475—477 (1974).
 7. I.A.Blyum and T.K.Dushina, Zavod.Lab., 25, 137—139 (1959).
 8. A.P.Golovina, Z.M.Khvatkova, N.B.Zorov, and I. P.Alimarin, Vest.Mosk. Gos. Univ., Ser.Khim., 13, 551—555 (1972).
 9. Z.T.Maksimychева, V.Ya, Artemova and Sh.T.Talipov, Manuscript No.664—74 deposited at Vsesoyuznyi Institut Nauchnoi i Tekhnicheshoi Informatsii, Moscow 1974.
 10. R.Bock and K.Hochstein, Z.Anal.Chim., 138, 337 (1953).
 11. N.L.Olenovish, L.I.Koval'chuk and E.P.Loitskaya, Zh.Anal.Khim., 29, 47—51 (1974).
 12. A.Bordea, Bull.Inst.Politech.Iasi, 13, 209 (1967).
 13. Masuo Miyamoto, Jap.Anal, 10, 98—102 (1961).
 14. 大西寛, Bull.chem.Soc. Japan, 30, 827 (1957).

15. T. Vesiene, Tr. Akad. Nauk. Lit. SSR, Ser. B [2 (65)], 101—103 (1971).
16. T. A. Grigoryan, F. V. Mizoyan and V. M. Tarayan, Zh. Anal. Khim. 28, 1962—1965 (1973).
17. CA. 81, 85527 (1974).
18. CA. 81, 85508 (1974).
19. G. F. Kirkbright, T. S. West and C. Woodward, Talanta, 12, 517—524 (1965).
20. И. А. Блюм, Идр., ЖАХ., 25, 18 (1970).
21. F. Salinas, C. Genestar, F. Grases., Anal. Chim. Acte, 130, 337—344 (1981).

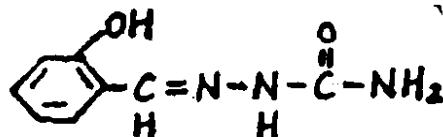
第八节 铈、钇的荧光分析

一、铈的荧光分析

(一) 概述。

能与铈离子络合生成荧光化合物的试剂有8-羟基喹啉、胍撑(Ⅲ)、水杨醛缩氨基脲、2-乙基-5-羟基-3-甲基色酮、2,4-二羟基苯甲醛缩氨基脲、 β -间苯二酚甲醛乙酰脲、超洛铬紫酱红、3,5-双[N,N-二(羧甲基)-氨基甲基]-4,4'-二羟基芪等。其中较实用的有水杨醛缩氨基脲。它由水杨醛和盐酸氨基脲缩合而成,与铈离子生成的络合物,在紫外光照射下会发生蓝色荧光。可在大量钍及铈离子存在下测定铈,灵敏度可达0.002ppm。2,4-二羟基苯甲醛缩氨基脲,类似于水杨醛缩氨基脲,也能与铈络合成荧光产物而用于矿样中铈的检测。

铈的荧光分析方法中,许多选择性不好,很多阳离子都存在



严重的干扰，因此限制了这些方法的实用。在应用这些方法中，必须认真考虑这个问题。

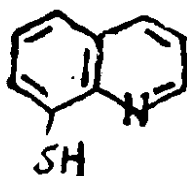
铀的荧光分析法的检测灵敏度比较如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
8-羟基喹啉	荧光络合物	0.1
胍撑(Ⅱ)	荧光络合物	0.01
水杨醛缩氨基脒	荧光络合物	0.002
2-乙基-5-羟基-3-甲基色酮	荧光络合物	4.0
2,4-二羟基苯甲醛缩氨基脒	荧光络合物	0.1
β -间苯二酚甲醛乙酰脒	荧光络合物	0.01
超洛铬-紫酱红	荧光络合物	5.0
桑色素+安替比林	三元络合物	0.01
3,5-双[N,N-二(羧甲基)-氨甲基]-4,4',-二羟基芪	荧光络合物	0.02
水杨醛缩氨基胍	荧光络合物	1.0
栝精	荧光络合物	0.1
亮茜素蓝G	荧光络合物	/
β -间苯二酚甲醛缩氨基脒	荧光络合物	0.002

(二) 分析方法.

1. 8-羟基喹啉法⁽¹⁾.

试剂结构:



它与铈形成的络合物, 可用氯仿萃取, 在紫外光照射下呈现黄绿色荧光。荧光峰510nm。试剂的其它衍生物也能反应, 它们与铈络合物的荧光峰分别为5,7-二氯-8-羟基喹啉, 526nm, 5,7-二溴-, 520nm; 5,7-二碘-, 515nm; 2-甲基-, 505nm⁽²⁾。

操作步骤:

在样品溶液(至少含0.01毫克铈)中, 加入0.25毫升0.2%试剂, 然后加入5ml20%氯化铵溶液, 调节PH至9.5, 再用25毫升氯仿萃取, 作荧光读数。

2. 肼撑(Ⅲ)(HydrazoⅢ)法⁽³⁾。

试剂在PH2—3.5时, 于50%丙酮中与铈形成荧光络合物, 荧光峰505nm。遵守比尔定律浓度范围: 0.01—3微克铈/50毫升。

假如铁存在, 需加入抗坏血酸或其它还原剂。0.1毫克钛, 0.15毫克钍、铈、钽或0.2毫升钒有干扰。

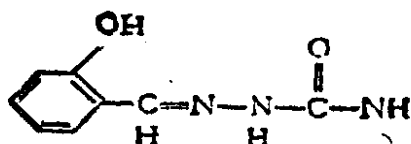
稀土氧化物中铈的测定:

将1克样品溶于5毫升盐酸中, 稀释至50毫升, 取此溶液10毫升整, 加入刚果红指示剂, 用1:1氢氧化铵将此溶液中和。加入10毫升PH=2.22的醋酸盐缓冲溶液, 0.5毫升5%抗坏血酸溶液, 15毫升丙酮, 10毫升肼撑(Ⅲ)丙酮液(含试剂5毫

克)，调节PH至2.5。再用丙酮稀释至50毫升，并调节PH至2.5，放置10分钟后作荧光读数。荧光峰505nm。

3. 水杨醛缩氨基脲法⁽⁴⁾。

试剂结构：



它由水杨醛与盐酸氨基脲缩合而成，与钪生成的络合物，在紫外光照射下会发生蓝色荧光。 $\lambda_{ex}370\text{nm}$ ， $\lambda_{em}455\text{nm}$ 。

此法灵敏度为0.002—0.02ppm。

可在大量钪及铈离子存在下测定微量钪，但铝、钇、铜、铁、钛(IV)、铋、镍、锡、镓、 Uo^{2+} ， Zro_2^{2+} 等离子有干扰。可采用铜铁试剂的氯仿萃取法以除去铁、钒(V)等离子。继用磷酸三丁酯萃取钪，以使钪和铝、钇分离。

操作手续：

缓冲溶液的配制：在800毫升水中溶解100克乙胺，用盐酸调节PH=6，稀释至1升。

将含有4.5—22.5微克钪的样品溶液加至250毫升分液漏斗中，与2.5毫升盐酸和5毫升1%铜铁试剂溶液混合，稀释至25毫升。用氯仿分两次，每次25毫升萃取。弃去有机相，转移水相至100毫升烧杯中。用蒸馏水洗分液漏斗，洗液合并至同一烧杯中。蒸发至5毫升冷却后转移至装有25毫升磷酸三丁酯的250毫升分液漏斗中。用25毫升浓盐酸洗烧杯，洗液合并于同一分液漏斗中。振荡1分钟，弃去水相。用盐酸分两次，每次25毫升洗有机相，弃去清洗液。用25毫升水和1毫升氢氧化铵反萃取钪，（注意：这样的水萃取液仍保持酸性）分离出水相。用氯仿分两次，

每次25毫升洗水萃取液以除去残留的磷酸三丁酯。放出水相于100毫升烧杯中，用水洗分液漏斗并合并于同一烧杯中，加10毫升氨水至水萃取液中并蒸发至约20毫升。冷却，用水溶解结晶氯化铵，加入PH=6的缓冲液2毫升。这时溶液的PH应在 6 ± 0.05 至 6 ± 0.02 之间。加入25毫升试剂溶液（每升乙醇中含有0.1788克试剂），并用水稀释至100毫升，静置30分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}370nm$, $\lambda_{em}455nm$ 。

4. 2-乙基-5-羟基-3-甲基色酮法⁽⁵⁾。

试剂能与铈形成络合物而用以荧光测定。

操作手续：

样品溶液中加入5毫升0.01试剂甲醇溶液，2.5毫升甲醇和5毫升PH11.5—12硼酸—氢氧化钠缓冲溶液，稀释至25毫升并静置30分钟。用10毫升苯萃取铈络合物，用硫酸钠干燥萃取液后作荧光读数。 $\lambda_{ex}405nm$, $\lambda_{ex}430nm$ 。络合物能稳定30分钟。用1微克/毫升荧光素钠作标准参考物。

遵守比尔定律浓度范围为：4微克铈/毫升。

5. 2, 4-二羟基苯甲醛缩氨基脲法⁽⁶⁾。

试剂能与铈络合而用于荧光检测。

操作手续：

将0.1克矿样用30毫升硫酸加热3小时，然后蒸发至干。加入4毫升盐酸并稀释至75毫升，过滤，在滤液中加入70毫克钙，调节PH=2，以草酸盐的形式沉淀铈和钙，离心分离。加入过氯酸并蒸发至干，将残渣溶于1:1盐酸中，并调节PH=1.6，用10毫升0.2M噻吩甲酰三氟丙酮的萃取液萃取铈。将萃取液的PH调节至6，加入试剂后可作荧光读数。 $\lambda_{ex}360nm$, $\lambda_{em}425nm$ 。

6. β -间苯二酚甲醛乙酰脲法⁽⁷⁾。

在PH=6的醋酸盐缓冲溶液中，试剂的40%乙醇溶液能与铈络合，生成1:1荧光化合物，在阳光照射下会发生蓝色荧

光, 荧光峰406nm.

此法测定范围为0.01—0.15微克钪/毫升.

锌、铝、铁、铜、钴、镍等离子有干扰.

7. 超洛铬—紫酱红法⁽⁸⁾.

试剂能与钪络合而用于荧光测定.

操作手续:

取含有5—40微克钪的样品, 加入2毫升20%醋酸铵溶液和0.8毫升0.01%染料溶液, 调节PH为5.5, 然后作荧光读数.
 $\lambda_{ex}485nm$, $\lambda_{em}565nm$.

此法有许多干扰.

8. 桑色素和安替比林法⁽⁹⁾.

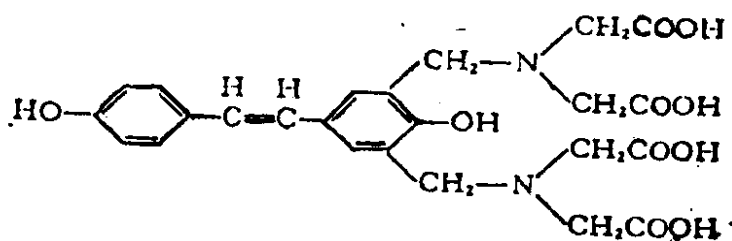
在高氯酸根离子存在时, 桑色素与钪离子和安替比林以及高氯酸根离子一起形成多元络合物, 其氯仿萃取液能发生荧光.
 $\lambda_{ex}430nm$, $\lambda_{em}510nm$.

此法测定范围为0.01—0.2微克钪/毫升.

铝、镓、铟、钍、铀离子有干扰. 钷的容许量为钪量的50—70倍, 稀土元素铈钪族的容许量为钪量的100倍.

9. 3,5—双〔N,N—二(羧甲基)—氨甲基〕—4,4'—二羟基芪法⁽¹⁰⁾.

试剂结构:



它与钪离子在0.01N稀盐酸溶液中所形成的络合物在紫外光照射下能发生荧光. $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}430nm$.

方法测定范围为0.02—0.2微克钪/毫升。

镓、钍、铝离子亦与该试剂能生成荧光络合物；钛(IV)、铜、重铬酸根、钒、铈等离子会使荧光熄灭。

10. 其它方法。

钪的荧光分析法还有：

水杨醛缩氨基胍法⁽¹¹⁾。灵敏度可达1 ppm。

栲精法⁽¹²⁾。试剂与钪生成1 : 1络合物，可检测至0.1—3 ppm。

亮茜素蓝G法⁽¹³⁾。试剂可与钪形成荧光络合物。

β -间苯二酚甲醛缩氨基胍法⁽¹⁴⁾。试剂可在PH=6时与钪络合成荧光化合物， $\lambda_{ex}360\text{nm}$ ， $\lambda_{em}425\text{nm}$ 。此法灵敏度为2—400纳克/毫升。

2-苯基喹啉-4-羧酸和罗丹明B法⁽¹⁵⁾。试剂可与钪形成三元络合物钪(III)-2-苯基喹啉-4-羧酸-罗丹明B。用苯从PH4.2中萃取后作荧光读数。 $\lambda_{ex}556\text{nm}$ ， $\lambda_{em}580\text{nm}$ 。此法灵敏度为1—45微克/10毫升，许多阳离子有干扰。

二、钇的荧光分析

1. 5, 7-二溴-8-羟基喹啉法⁽¹⁶⁾。

试剂与钇生成络合物而用于荧光检测。

镧盐中钇的测定：

将0.25克氧化镧或等量的镧盐溶在1 : 1盐酸中，加热至100℃以使其溶解。蒸干，取出残渣溶于5毫升水中。取1毫升整，加入1毫升PH=6.5的醋酸盐缓冲溶液和1毫升0.01%试剂的乙醇溶液，稀释至10毫升并用5毫升苯萃取。从镧中分出的1 : 3钇-试剂络合物在紫外线照射下发黄绿色荧光。用汞灯激发，在500nm处测荧光。

2. 5, 7-二氯-8-羟基喹啉法⁽¹⁷⁾。

试剂与三价钇离子在PH9.5的氯化铵—氢氧化铵缓冲溶液中所生成的络合物的氯仿萃取液，在紫外光照射下会发生绿黄色荧光，它比8—羟基喹啉—钇络合物的荧光稳定。五倍于钇量的铈、镧、镨有干扰，其它稀土元素的容许量较大。此法用于磷钇矿中钇的测定，测定范围为0.004—0.2微克/毫升。

磷钇矿中钇的测定：

将0.25—0.50克矿样放于100毫升烧杯中，用少量水润湿后，加入20毫升硫酸一起加热2小时，冷却，用水稀释至50毫升，并过滤，除去不溶性残渣。加入60毫升1N草酸于滤液中，并用氨水调至PH刚好至2—2.2，放置1—2小时。过滤草酸沉淀，灰化并灼烧。冷却后称量，得出稀土元素氧化物的含量。称取上述稀土元素氧化物25毫克，用盐酸溶解，然后稀释，使容器中稀土的含量约为每毫升10微克。移取此溶液1毫升整，加入0.25毫升0.2%试剂溶液，5毫升20%氯化铵溶液和20毫升水。用氨水调节PH=9.5，移至分液漏斗中，用25毫升氯仿萃取3分钟。移出氯仿萃取液于离心管中，离心分离去水。将氯仿萃取相作荧光测量。 $\lambda_{ex}365nm$ ， $\lambda_{em}520nm$ 。由工作曲线求出钇量，然后计算试样中钇含量。此法灵敏度0.2微克/毫升。

3. 8—羟基喹啉法⁽¹⁸⁾。

试剂与三价钇离子所组成的络合物的萃取液，在紫外光照射下会发生蓝绿色荧光。荧光峰500nm。此法测定范围为0.5—5微克钇/毫升。铈量为钇量的2倍或镨量为钇量的3倍时不干扰。

在含有10—50微克钇的样品溶液中，加入1毫升0.5%试剂的1N醋酸溶液。加入5毫升20%醋酸铵。用氨水调节PH=9.55，放置3分钟。用氯仿萃取三次，每次10毫升。将萃取剂合并并用氯仿稀释至50毫升，过滤。在萃取开始15分钟后记录荧光。

4. 优洛托平的水杨酸苯醚的乙醇溶液⁽¹⁹⁾。

此试剂可用于纸上色层法测定稀土元素混合物中的钇，荧光峰470nm。检出限量为0.5微克。当钇量少于4微克时，荧光强度与钇的浓度成正比。

参考文献:

1. Yashuharu Nishikawa, Keizo Hiraki and Tsunenobo Shigemotsu, *J. Chem. Soc. Jap. Pure Chem Sect.*, 83, 1264—67 (1962).
2. Y. Nishikawa, K. Hiraki and T. Shigemotsu, *J. Chem. Soc. Japan*, 90, 483 (1969).
3. A. V. Dolgorev, N. N. Pavlova and V. A. Ershova, *Zavod. Lab.*, 39, 658 (1973).
4. I. M. Korenman and V. S. Efimychev, *Zh. Anal. Khim.*, 71, 425—428 (1962); G. F. Kirkbright, T. S. West and C. Woodward, "proceedings of the SAC Conference, Nottingham 1965", pp. 474—480; *Analyst* 91, 23—26 (1966).
5. Motoshi Nakamura and Akira Murata, *Jap. Anal.*, 22, 1474—1480 (1973).
6. Kiyotoshi Morisige, Sakae Sasaki, Keigo Hiraki and Yasharu Nishikawa, *Jap. Anal.*, 24, 321—324 (1975).
7. Z. Urnev, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 33, 1078—1090 (1968).
8. Keizo Hiraki, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 45, 1395—1399 (1972).
9. V. A. Nazarenko and V. P. Antonvich, *J.*

- Anal. Chem., USSR, 24, 254 (1969).
10. Cf. 陈国珍《荧光分析法》p.163 (1975).
 11. D.P. Shcherbov and V. Nikolaeva, Prom. Khim. Reakt. Osob. Chist. Veshestv., 186 (1967).
 12. H. Hamaguchi, R. Kuroda, R. Sugisita, N. Onuma and T. Shimizu, Anal. Chim. Acta, 28, 61—67 (1963).
 13. Keizo Hariki, Bull. Chem. Soc. Jap., 45, 789—793 (1972).
 14. Kiyoshi Morisige, Anal. Chim. Acta, 73, 245—254 (1974).
 15. CA, 76, 107588 (1972).
 16. A. I. Kirillov, R. S. Lauer and N. S. Poluektov, Zh. Anal. Khim., 22, 133—1337 (1967).
 17. Tsunenobu Shigematsu, Yashuharu Nishikawa, and Keizo Hiraki, Jap. Anal., 15, 493—498 (1966).
 18. Masayoshi Ishibashi, Tsunenobu Shigematsu and Tasuharu Nishikawa, J. Chem. Soc. Jap., 77, 1474—1479 (1956).
 19. А. И. Кириллов, Р. С. Лауэр, Н. С. Полуэктово, Журнал хим, 1966, 21, 1018.

第九节 锗、锡、铅的荧光分析

一、锗的荧光分析

(一) 概述。

锗的荧光分析方法并不多。常用的荧光试剂为5-氯-3-(2,4-二羟基苯偶氮)-2-羟基苯甲酸，它在盐酸和磷酸的混合液中能与锗形成1:1的橙红色络合物，在阳光照射下会发生玫瑰色荧光。

其它的荧光试剂有：安息香，雷琐苯乙酮，三羟基蒽醌，8-羟基喹啉等。其中雷琐苯乙酮与Ge的反应特效。它在浓酸溶液中与锗的络合产物会发生亮黄绿色荧光。其它元素和试剂生成的化合物不发生荧光。

锗还能与茜素络合剂—罗丹明6G生成三元络合物而用于荧光检测。

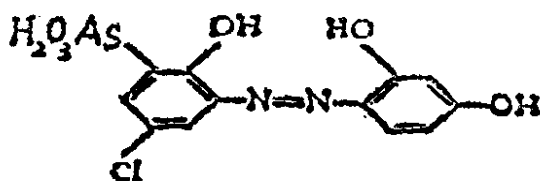
各种锗的荧光分析法检测灵敏度如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
5-氯-3-(2,4-二羟基苯偶氮)-2-羟基苯甲酸	荧光络合物	0.004
安息香	荧光络合物	2
雷琐苯乙酮	荧光络合物	100
茜素络合剂—罗丹明6G	三元络合物	0.002
三羟基蒽醌	荧光络合物	2
8-羟基喹啉	荧光络合物	0.1

(二) 分析方法.

1. 5-氯-3-(2,4-二羟基苯偶氮)-2-羟基苯肼酸法⁽¹⁾.

试剂结构:



它与锆能形成1:1的橙红色络合物,在阳光照射下会发生玫瑰色的荧光。 $\lambda_{ex}500\text{nm}$, $\lambda_{em}610\text{nm}$ 。此法灵敏度为0.004微克/毫升。1微克镍或100微克铜的存在会使荧光熄灭,应加以分离。如存在100倍锆量的铝或1000倍锆量的铟或锌,荧光强度明显增强。

此法可用于硅酸盐,硫化物和煤中锆的检测。

煤灰中锆的测定⁽²⁾:

将0.1克样品与1毫升1%碳酸钠溶液混合放至铂金坩埚中,加热并蒸干。加入5毫升盐酸并再次蒸发至干。然后将残渣溶于2.8毫升水中,加入0.2毫升盐酸,1毫升磷酸和0.8毫升0.005%试剂溶液,静置15分钟后在600nm处测量荧光。

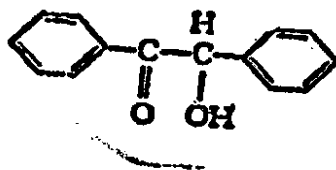
硅酸盐中锆的测定:

称取0.5—1克硅酸盐样品于铂金坩埚中,用少量水润湿,加入5毫升浓硝酸,在水浴上加热蒸干。加入5毫升40%氢氟酸和5毫升磷酸,搅拌,在水浴上加热1—1.5小时。加入0.5毫升浓硫酸并在电炉上加热至冒白烟。加入少量水和亚硫酸钠,重新加热至冒白烟。用25毫升热的2%硼酸溶液使坩埚内熔物溶解,转移至50毫升烧杯中。溶液冷却后,将它转入分液漏斗中,用5毫升盐酸洗涤烧杯并合并于分液漏斗中。加入70毫升浓盐酸和10毫升四氯化碳摇荡1分钟,分出四氯化碳萃取液。用

9N盐酸洗涤几次，转移至另一小分液漏斗中，加入8毫升盐酸和磷酸混合液（50毫升浓盐酸和250毫升磷酸混合，加水至1升），2毫升0.005%试剂丙酮溶液，摇荡10—15分钟。待分层后移出水相作荧光读数。

2. 安息香法⁽³⁾。

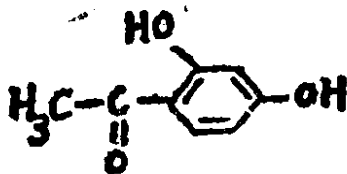
试剂结构：



它对铍是特效试剂，但在弱碱性乙醇溶液中，也能与锆络合，产物会发生黄绿色荧光。由于建立荧光检测锆的方法。此法灵敏度为2 ppm。干扰离子有钒、硼、铍、铬酸根、亚硝酸根和硅酸根。

3. 雷琐苯乙酮法⁽⁴⁾。

试剂学名为：2, 4—二羟基苯乙酮，结构式：



它在浓酸溶液中能与锆络合，产物会产生亮黄绿色荧光。此法选择性好，但灵敏度只到100ppm。硼酸产生蓝色荧光，其它元素和试剂生成的化合物不发生荧光。亚硝酸根、硝酸根、氟及铬酸根等离子的存在会引起荧光熄灭，需加以分离。

4. 茜素络合剂—罗丹明6G法⁽⁵⁾。

在PH 5—6时，锆与试剂形成1 : 3 : 5的络合物，用1 : 4四氯化碳—氯仿萃取，过滤，用0.1M氯化钠溶液洗。然

后溶于1 : 1 乙醇—0.1N氢氧化钠中，络合物断裂。荧光峰543 nm。

此法灵敏度为2—100纳克二氧化锆/毫升。

氯化物、溴、碘离子，硝酸根，高氯酸根离子有干扰。

5. 其它方法。

三羟基蒽醌法⁽⁶⁾。试剂与锆生成络合物，产生红色荧光，可检测至2 ppm锆。铝、硼、钍有干扰。

8—羟基喹啉法⁽⁷⁾。试剂与锆在氯仿中形成1 : 2络合物，在紫外光照射下会发生绿色荧光。

二、锡的荧光分析

(一) 概述。

用于荧光测定锡的试剂，常见的有三类：

1. 硝基萘胺磺酸类。

在微碱性溶液中，硝基萘胺磺酸的许多异构体能与锡离子络合，产物在紫外线照射下会发生蓝色荧光。其中，代表性的试剂是6—硝基—2—萘胺—8—磺酸，可用于铜合金中锡的测定。

2. 羟基喹啉类。

如8—羟基喹啉，8—羟基喹啉—5—磺酸。其中，8—羟基喹啉—5—磺酸检测锡的灵敏度很高，可达5 ppb—0.25 ppm。

3. 羟基黄酮类。

它们是黄酮醇、桑色素和3, 4', 7—三羟基黄酮，在用于检测锡中都有较高的灵敏度，但选择性不好。

罗丹明B也能与锡(IV)在氢溴酸溶液中发生络合，所生成的化合物可用苯萃取，萃取液在阳光下会发生荧光。 $\lambda_{ex}565$ nm, $\lambda_{em}580$ nm。此法的测定范围为0.1—2 微克锡/毫升萃取液，再现性良好。

邻一偏苯三酚酞和四溴、四碘或二氯四碘荧光素，也能用于铕的荧光分析。

各种铕的荧光分析法的检测灵敏度如下表。

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
黄酮醇	荧光化合物	0.008
8-羟基喹啉-5-磺酸	荧光化合物	0.005
桑色素	荧光化合物	0.2
6-硝基-2-萘胺 -8-磺酸	荧光化合物	2.0
3,4',7-三羟基黄酮	荧光化合物	0.02
罗丹明B	三元络合物	0.1
8-羟基喹啉	荧光络合物	1.0
邻一偏苯三酚酞	荧光络合物	0.5
四溴荧光素+1,10-菲绕啉	三元络合物	0.005

(二) 分析方法。

1. 黄酮醇法⁽⁸⁾。

在0.1—0.5N硫酸中，四价锡能与试剂络合，生成1：1的荧光产物，产物发蓝白色荧光。络合物和试剂都几乎不溶于水，一般用二甲基甲酰胺作溶剂。

操作方法：

在含有0.1—0.7毫克锡的样品水溶液中，加入7.5毫升二甲基甲酰胺，加入足够量的硫酸以使在样品中的总含量等于1毫升1：11的酸。加入2毫升0.05%试剂乙醇溶液并用水稀释至25毫升，15分钟后读数。 $\lambda_{ex}405nm$ ， $\lambda_{em}470nm$ 。

此法检测范围为0.008—0.02微克锡/毫升。

锆、氟、磷酸根等离子有干扰，须加以分离。

2. 8-羟基喹啉-5-磺酸法⁽⁹⁾。

试剂能与锡络合生成荧光产物而用于测定。

操作时，将锡样品溶液与PH=4—5.2的醋酸—醋酸盐缓冲溶液混合，再加入试剂溶液，混匀后作荧光读数。 $\lambda_{ex}360nm$ ， $\lambda_{em}515nm$ 。

此法灵敏度为：5 ppb—0.25ppm。

铁、铜、汞、镍、氟EDTA、柠檬酸根、酒石酸根、草酸根能熄灭荧光。痕量的铝、锌、铈和锆能增强荧光。

3. 桑色素法⁽¹⁰⁾。

锡离子能与试剂生成黄色络合物，在0.04N—0.06N盐酸中产生亮的蓝绿色荧光。

对于铅合金，可将锡以碘化物的形式用苯从样品溶液中萃取出，再用0.05N盐酸萃取锡。用桑色素和安替比林的氯仿和乙醇混合试剂显色，在436nm处测荧光。

在食品试样中锡的分析操作如下：用20毫升1：1硫酸和5毫升硝酸提取样品。视样品的情况，如需要的话可加入一些硝酸、过氯酸和过氧化氢作帮助。当提取物是无色时，加热蒸发至白烟冒尽。冷却并稀释至50毫升。取10毫升整，用40%氢氧化钠溶液中和（用1：3盐酸补偿）。再加入2毫升0.2%试剂乙醇溶液并用乙醇稀释至50毫升，在420nm处读数。

此法可检测低于0.2ppm锡。

4. 6-硝基-2-萘胺-8-磺酸法⁽¹¹⁾。

亚锡离子与试剂的铵盐生成的荧光可作灵敏和精确的测定。

在铜基合金中锡的分析操作如下：

试剂的配制：在450毫升硫酸中，边搅拌边一点点的加入33克2-氨基萘-8-磺酸，再加入12.9克脲以阻止在硝化过程中

亚硝酸的形成。在外面用冰和盐冷却至 -20°C ，而且在溶液中加入干冰。从滴液漏斗中滴入11.6毫升硝酸和18毫升硫酸的混合液，整个滴入过程超过2小时，并且一直维持溶液温度在 -20°C 和缓慢的机械搅拌中。於 -20°C 再维持一小时后将溶液倒于1千克碎冰中。一小时后，过滤生成的淡黄色沉淀，并用冰水将它从硫酸中洗出。用氢氧化铵滴至刚好为碱性，在冰箱中冷却。用活性炭脱色并从水中重结晶。

将含有10毫克锡的样品溶于5毫升硝酸中，蒸发到近干但不要结块。加入30毫升1:5硝酸并在近 100°C 加热1小时。在 90°C 时离心，然后倒去上层清液。用热的1%硝酸铵溶液分三次，每次5毫升，洗偏锡酸。加入1克酒石酸和10毫升5N盐酸。将溶液装入下图装置中的容器D中。通入二氧化碳并且逐渐加热至溶液澄清。冷却，加入1毫升饱和氯化汞溶液和1 ml 30%次磷酸溶液，温热直至沉淀结出。加入30毫升5N氢氧化铵，冷却后加入10毫升1%试剂溶液，静置2小时直到显出最强的荧光。用水稀释至1升。取此溶液10毫升整与10毫升5N氢氧化铵混合，然后稀释至100毫升，作荧光读数。激发峰 365nm 。

此法灵敏度为0.2毫克/100毫升。

亚铁和亚锡离子有干扰。

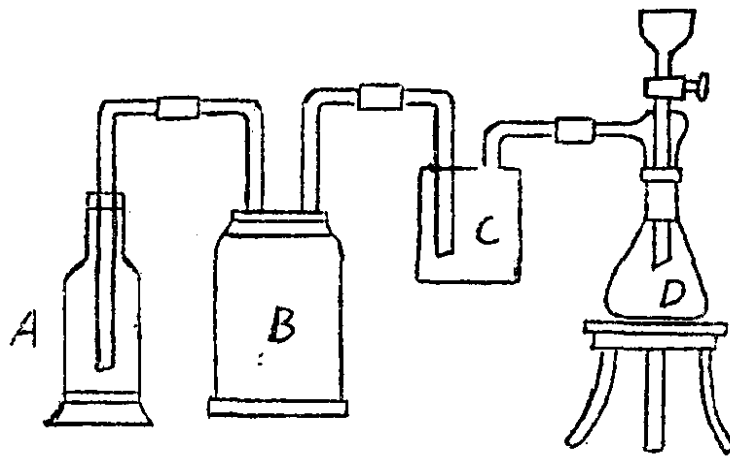


图3—8 亚锡离子和6-硝基-2-萘胺-8-磺酸的荧光显色装置

5. 3, 4', 7-三羟基黄酮法⁽¹²⁾。

锡离子与此试剂在隋性气体中反应产生荧光。

操作手续：

缓冲溶液的配制：在400毫升水中溶入110毫升硫酸，再在400毫升水中溶解120克氢氧化钠，将两种溶液混匀。不能用试剂级的硫酸钠代替。加入20克磺酸并稀释至1升。

有机试剂的配制：每100毫升乙醇中溶解5毫克3, 4, 7-三羟基黄酮。

假如存在干扰离子，在样品溶液中加入1毫升17%硫酸氢钠溶液和0.5毫升硫酸。蒸发直至所有的烟冒尽。加入2毫升水并蒸发至约0.5毫升。放入25毫升1 : 3硫酸中，再加入2.5毫升现配的5 M碘化钾溶液，用10毫升甲苯萃取两分钟并弃掉水相。萃取液中含有少量游离碘。用15毫升1 : 3硫酸萃取5秒，加入3毫升5 N碘化钾，振荡一分钟后弃去水相。加5毫升水至甲苯相中，然后加入20%氢氧化钠溶液滴至甲苯层无色，通常需6—8滴，然后加2滴过剩。振荡30秒，分出含水的锡溶液，用0.4%的氢氧化钠溶液分两次，每次3毫升洗甲苯层，清洗液并入上面的萃取液中。加入1毫升17%硫酸氢钠溶液，0.5毫升硫酸和5滴硝酸，蒸发至三氧化硫冒烟。重复加入水、硝酸和蒸发。此时加热使焦硫酸盐熔融。在蒸发和熔融过程中，如存在卤化物，可不加硝酸。将残渣溶于2毫升水中，加入3滴25%硫酸羟胺溶液。蒸发至约0.5毫升，并加入10毫升硫酸钠—磺酸缓冲溶液和1毫升有机试剂并稀释至25毫升。平衡20分钟后读数。 $\lambda_{ex}377\text{ nm}$, $\lambda_{em}473\text{ nm}$ 。

由于此反应灵敏度高，每一步操作都必须严格控制。

此法可检测0.007微克锡，对于浓度高于0.02微克时，精确到10%。

铈、锆、铪、铝、镓、钨、钼、铌、钽和卤化物有干扰。

6. 罗丹明B法⁽¹³⁾。

罗丹明B与锡(IV)在氢溴酸溶液中能生成三元络合物锡(IV)—罗丹明B—Br⁻，可用苯萃取，萃取液在阳光照射下会发生荧光。

操作手续：

取烟灰试样0.1克，用王水溶解，蒸干。加入0.3N盐酸溶液，通入硫化氢气体。硫化物沉淀用玻璃坩埚过滤，溶于5—10毫升王水中，蒸干。将残渣溶于4N氢溴酸溶液中，加入1.5毫升0.5%罗丹明B溶液，用5毫升苯萃取2—3次，弃去有机相。调节水相总体积为10毫升及氢溴酸浓度为2N，然后用5毫升苯萃取。将萃取剂作荧光读数， $\lambda_{ex}565nm$ ， $\lambda_{em}580nm$ 。

此法测定范围为0.1—2微克锡/毫升萃取液，再现性良好。

铟、铊、金等离子有干扰。

7. 8-羟基喹啉法⁽¹⁴⁾。

锡离子与试剂生成络合物，能在PH2.7—5.6时用氯仿萃取，然后在紫外光下作荧光检测。检测范围1—3微克锡/毫升萃取液。

铅、铟、锌、铁、铜和镓在同条件下也形成荧光络合物，对检测有干扰。

8. 邻-偏苯三酚酞法⁽¹⁵⁾。

锡与试剂生成1 : 2络合物，能被作荧光检测。

操作手续：

将含有0.55微克锡离子的样品溶液与0.5毫升0.5%的明胶溶液和0.5毫升1 mM的试剂溶液混合。用3%硫酸调节PH=2—2.8，并稀释至10毫升，然后作荧光读数。荧光峰520nm。用试剂作参照。

锆、铈、铋、铁离子和钼能使荧光略有增强。

9. 四溴一，四碘一，或二氯四碘荧光素法⁽¹⁶⁾。

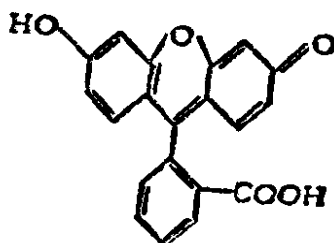
在锡与1, 10-菲绕啉的络合物中, 加入试剂, 在PH=9
 时用氯仿萃取。在1 : 1 氯仿-丙酮中, 于580nm处作荧光读数。
 此法灵敏度为: 0.005微克/毫升。

三、铅的荧光分析

1. 荧光素法⁽¹⁷⁾。

在酸性介质中, 铅与试剂反应, 能熄灭荧光素的荧光。

试剂结构:



试剂配制:

0.8M试剂水溶液。

操作手续:

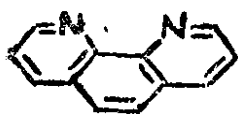
在3 : 10盐酸、0.8M试剂与氯化钾混合液中, 加入试样溶液, 混匀作荧光读数。 $\lambda_{ex}270nm$, $\lambda_{em}480nm$ 。荧光读数至少能维持15分钟。

注意事项:

铬、铋、铜、铁等离子有干扰。可测铅含量为0.1—0.6 ppm。

2. 1, 10-菲绕啉法⁽¹⁸⁾。

试剂结构:



试剂与铅形成的络合物中，加入四溴、四碘、或二氯四碘荧光素，形成三元络合物而用于荧光测定。

操作时，在PH=9时用1：1氯仿—丙酮萃取，然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}540nm$ ， $\lambda_{em}580nm$ 。

检测灵敏度为0.05—10微克/10毫升。

注意事项：

许多阳离子有干扰，需予分离。

3. 硫化锌固体吸附法⁽²⁰⁾。

铅离子被吸附于纯制的硫化锌固体上，在紫外光照射下会发生黄色荧光。

操作手续：

将试样溶液与等体积的5%醋酸锌溶液混合，移取此混合液一滴于硫化锌的薄片上，烘干，在紫外光照射下将出现黄色荧光。此法可检出 5×10^{-11} 克铅。

半定量分析时，将2毫升试样溶液，2毫升10%醋酸锌溶液与0.04克硫化锌粉末仔细混合，然后在紫外光激发下测量其荧光强度。此法测定范围为1—100微克铅/毫升。

注意事项：

铊、铜、硅、锑、铋等离子有干扰。

4. 氯离子法⁽²¹⁾。

铅离子与氯离子组成的铅氯络合物，在远紫外光激发下会发生蓝色荧光。

操作时，将试样溶液调配成3.6N盐酸—0.82N氯化钾溶液，然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}270nm$ ， $\lambda_{em}480nm$ 。

此法测定范围为0.1—0.6微克铅/毫升。

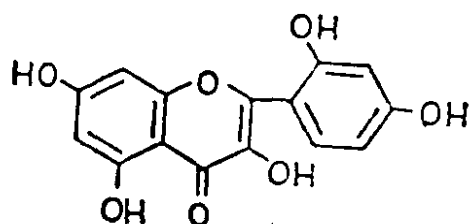
注意事项：

铁(Ⅲ)和钒(V)有干扰，但可加入氯化亚锡消除之；铬(VI)亦有干扰，可加入亚硫酸钠消除。

铅氯络合物在紫外光照射下所发生的荧光，随着络合物的温度下降而荧光增强，同时荧光峰向短波方向移动。如冷冻至 -20°C 或 -70°C ，其荧光为绿色。如冷冻至 -196°C ，并用 248nm 射线激发，则荧光峰在 385nm 。其灵敏度为 0.0001 微克铅/ 0.2 毫升溶液。

5. 桑色素法⁽¹⁹⁾。

试剂结构：



铅能与桑色素反应产生黄—绿色荧光。

此法能检测 5ppm 铅。

参考文献：

1. A.M.Lukin, K.A.Smirnova and G.B.Zavarikhina, Tr.Vses.Nauchn.Issled.Inst.Khim.Reakt. 1966 (29), 282—289.
2. A.M.Lukin, et.al., J.Anal.Chem.USSR, 22, 1040 (1967).
3. N.Raju and G. Rao, Nature, 175, 167(1955).
4. *ibid.*, 174, 400 (1954).
5. G.V.Flyantikova and L.I.Korolanko, Zh. Anal.Khim, 30, 1349—1353 (1975).
6. Tr.Po Khim.i.khim Tekhnol., 1, 134 (1958).
7. L.B.Ginzburg, Inv.Akad.Nuuk.Kaz.SSR, Ser.Khim., 1, 94—98 (1957).

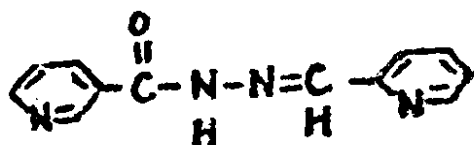
8. C.E. White, H.C.E. Mcfarlane, J. Fugt and R. Fuchs, *Anal. Chem.*, 39, 367 (1967).
C.F. Coyle and C.E. White, *Aual. Chem.*, 29, 1486 (1957).
9. B.K. Pal and D. Ryan, *Anal. Chim. Acta*, 48, 227 (1969).
10. V. Palrovsky, *Chem. Listy*, 47, 676 (1953).
11. J.R.A. Anderson and S. Lenzer Lowy, *Anal. Chim. Acta*, 15, 246—253 (1956).
12. T.D. Filer, *Anal. Chem.*, 43, 1753—1757 (1971).
13. 陈国珍《荧光分析法》p.187—188 (1975).
14. L.B. Ginzburg and E.P. Shkrobot, *Zavod. Lab.*, 23, 527—533 (1957).
15. Itsuo Mori, Yoshikazu Fujita and Takehisa Enoki, *Jap. Anal.*, 25, 388—392 (1976).
16. D.N. Lisitsyna and D.P. Shchzrbov, *Zh. Anal. Khim.*, 28, 1203—1205 (1973).
17. G.F. Kirkbright and C.G. Saw, *Talanta*, 15, 570—574 (1968).
18. D.N. Lisitsyna and D.P. Shcherbor, *Zh. Anal. Khim.*, 28, 1203—1205 (1973).
19. H. Goto, *Chem. zb.* 1, 1068 (1941).
20. 陈国珍《荧光分析法》188—189 (1975).
21. G.F. Kirkbright, C.G. Saw, *Talanta*, 15, 570 (1968).

第十节 钛、锆、钪的荧光分析

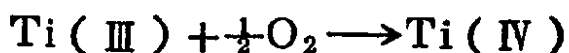
一、钛的荧光分析

1. PANH法⁽¹⁾.

试剂结构:



其醇溶液和水溶液无荧光，在痕量钛(IV)催化下能被大气中或溶液中溶解的氧氧化而生成荧光产物。从而可用于检测钛(IV)至60—400ng/ml。λ_{ex}365nm, λ_{em}445nm。其反应式为:



操作手续:

PANH的合成: 在25毫升蒸馏水中溶解1.00克菸肼, 在5毫升乙醇中溶解0.78克皮考琳醛, 两液混合, 摇荡1小时, 得黄白色沉淀, 从1:1乙醇—水中重结晶, 得成品。熔点162℃。用时配成0.1—0.2%的乙醇溶液。

标准钛(IV)溶液: 在110℃将干燥的钛金属溶在近100毫升6M盐酸中, 用蒸馏水稀释至1升。

缓冲液: PH=6.5的三乙醇胺—盐酸缓冲液。

在25毫升标准烧瓶中, 顺序加入5毫升0.1M硝酸钾, 5毫升PH6.5缓冲剂, 2毫升0.1%PANH溶液和1.85毫升0.2M氢氧化钠, 用蒸馏水稀释至25毫升。取此液3.5毫升放至荧光分光光度计的石英池中, 当达到所需温度时, 加入100微升钛(IV)溶

液。在开始加入钛后20秒钟后测荧光强度， $\lambda_{ex}365\text{nm}$ ， $\lambda_{em}445\text{nm}$ 。钛(IV)线性浓度范围为：200—800ng/ml，误差3.1%。

2. 2—甲基—3—乙基—5—羟基色酮法⁽²⁾。

Ti与试剂生成荧光络合物，激发峰395nm，荧光峰513nm。在PH6.5—8.5中用四氯化碳萃取时，荧光强度稳定。检测限度0.5—5.0 μg 。

操作手续：

在含有0.5—5.0微克钛(IV)的样品溶液中，加入2.5毫升 $2 \times 10^{-2}\text{M}$ 试剂甲醇液，7.5毫升甲醇(甲醇最终含量是40% v/v)及1M有效的氨溶液调节PH至6.5—8.5，然后用水稀释混合物至25毫升。1小时后，用10毫升四氯化碳激烈摇荡30秒钟以萃取Ti与试剂的络合物。分离有机相并用硫酸钠干燥，测量。 $\lambda_{ex}405\text{nm}$ ， $\lambda_{em}430\text{nm}$ 。

标准：0.5微克/毫升荧光素钠水溶液。

3. 水杨酸法⁽³⁾。

试剂与钛反应生成络合物可作荧光检测，灵敏度1 ppm。此方法没有被广泛使用。

二、锆的荧光分析：

(一) 概述。

锆的荧光分析法，有形成荧光络合物的方法，也有荧光熄灭法。

与锆能形成荧光络合物的试剂有：桑色素，2，4'，7—三羟基黄酮，钙黄绿素蓝，8—羟基喹啉，喹啉基荧光酮，3—羟基色酮，间羟苯基—邻—氨基酚，4—水杨叉缩氨基安替比林，槲皮素，打提斯加根甙及3,3',4',5,7—8羟基黄酮—6'—磺酸等。其中以钙黄绿素蓝为最灵敏，在 Zr^{+4} 离子浓度为0.5—

2 ppb的范围内, 其荧光强度与锆浓度呈线性关系。此法再现性好, 但选择性不好, 许多离子, 如 Ag^+ 、 Al^{3+} 、 Bi^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Th^{4+} 、 $\text{W}(\text{VI})$ 等离子有干扰。

黄酮醇试剂, 在硫酸介质中呈蓝白色荧光。 Zr^{4+} 离子的存在, 能使其荧光熄灭, 这是因为生成了络合物的缘故。此法灵敏度为0.1 ppm。

锆的各种荧光分析法灵敏度比较如下:

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
黄酮醇	荧光熄灭	0.1
桑色素	荧光络合物	0.02
2,4',7-三羟基黄酮	荧光络合物	0.002
钙黄绿素蓝	荧光络合物	0.0001
8-羟基喹啉	荧光络合物	0.1
喹啉基荧光酮	荧光络合物	0.1
8-羟基色酮	三元络合物	0.1
间羟苯基-邻-氨基酚	荧光络合物	1.0
4-水杨叉缩氨基安替比林	荧光络合物	/
槲皮素	荧光络合物	0.05
打提斯加根甙	荧光络合物	0.005
3,3',4',5,7-五羟基黄酮 -6'-磷酸	荧光络合物	0.2

(二) 分析方法。

1. 黄酮醇法⁽⁴⁾。

在硫酸介质中, 试剂的蓝白色荧光能被锆熄灭, 这是因为生

成了络合物的缘故。硫酸浓度为0.2N，试剂浓度为0.01%。
 $\lambda_{ex}390nm$, $\lambda_{em}465nm$ 。

此法灵敏度为0.1ppm，阳离子中只有铈有干扰，氟，磷酸根离子也有干扰。

操作手续：

取约含0.25毫克二氧化锆的样品，微加研磨。放至铂金坩埚中，加入10倍样品量的3：1硼酸钠—硼砂，熔融。冷却，再次熔化样品，并在1000℃熔融15分钟。冷却后溶在水中，过滤，先用2%碳酸钠，然后用水洗残渣，丢弃滤液。滴加5N硫酸将残渣从滤纸上溶解，并洗涤。用20%氢氧化钠调至碱性（用酚酞作指示剂），并加过量5毫升。过滤，洗涤，并丢弃滤液。逐滴加入20毫升1N硫酸使沉淀溶解，洗涤滤纸并稀至100毫升。取此液10毫升整放在汞池中，在0.5A下电解45分钟以除去铁和重金属离子。将从电池中排出的成分与10毫升0.2N硫酸混合，加入1毫升0.01%试剂溶液并用0.2N硫酸稀至25毫升。避光放置20分钟后作荧光读数。用本底作参照。

2. 桑色素法⁽⁵⁾。

试剂与锆(IV)在2N盐酸的80%乙醇中反应，形成1：2的荧光络合物，显黄绿色荧光。试剂浓度为0.02%乙醇溶液，能检测至低于0.02ppm。氟、铁、锆、铈、铈、磷酸根、铈和铈等离子有干扰。 $\lambda_{ex}425nm$, $\lambda_{em}515nm$ 。

操作手续：

称取粉状试样0.25克，与2.5克碳酸钠熔融半小时。熔融物用20毫升水在蒸汽浴上沥取数小时或在室温搁置过夜。用玻璃棒把块团搅拌，过滤，用温水洗涤残渣，弃去滤液和洗液。将残渣溶于15.0毫升热的6M盐酸中，用水洗涤滤纸（如滤纸留有余渣，须将滤纸烧成灰，再和碳酸钠熔融），将盐酸溶液和洗液稀释至25毫升。移取此溶液2.00毫升于另一25毫升容量瓶中，加入

0.2毫升硫乙酸溶液(1:9),加水至总体积约为18毫升,混匀后搁置5分钟使铁(Ⅲ)离子全部被还原为铁(Ⅱ)离子。加入3.6毫升浓盐酸及0.90毫升桑色素溶液(30毫克/100毫升乙醇),用水稀释至刻度。在加入试剂后10分钟作荧光读数⁽⁶⁾。

海水中Zr的测定⁽⁷⁾。

在20升样品中(每升含锆0.01—0.04微克),加入100毫克铝离子,用氨水沉淀并过滤。并沉淀溶于10毫升1:3HCl中并蒸发至干。取出放至10毫升1:5HCl中,用10毫升0.2M2-吩噻甲酰三氟丙酮的苯溶液萃取,将有机层蒸干并加入2毫升过氯酸,加热至烟冒尽,溶在10毫升1.8N盐酸中。加入0.5毫升0.02%桑色素的乙醇溶液,然后用1.8NHCl稀释至25毫升。在436nm处读数。

3. 2, 4', 7-三羟基黄酮法⁽⁸⁾。

试剂与Zr⁴⁺离子所组成的络合物,在阳光照射下会发生荧光。 $\lambda_{ex}417nm$, $\lambda_{em}475nm$ 。方法灵敏度0.002 $\mu gZr/ml$ 。在0.006—0.4 $\mu gZr/ml$ 范围内,荧光强度与锆浓度呈线性关系。铪、铈、锡、铝、铬、铌、钽等元素对此法有干扰。

操作手续:

0.5M硫酸溶液的配制:在水中溶解5克磺酸和14毫升硫酸,冷却并稀释至500毫升。

在样品溶液中,加入2滴过氯酸和1毫升10%磺酸钠的硫酸溶液,蒸发至干直至烟冒尽。冷却,在硫酸氢钠残渣中加入2毫升水和三滴25%硫酸羟胺溶液。蒸发至约0.5毫升,加入15毫升0.5M磺酸溶液。然后加入1毫升试剂溶液,试剂浓度为100毫升乙醇中含6.75毫克试剂。再稀释至25毫升并在25℃存放20分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}417nm$, $\lambda_{em}475nm$ 。

4. 钙黄绿素蓝法⁽⁹⁾。

试剂与Zr⁴⁺离子所组成的络合物,在紫外光照射下会发生

荧光。此法灵敏高，再现性良好。但此法选择性不好，许多离子有干扰。

操作手续：

有色试剂的配制：在0.25毫升0.1M氢氧化钾帮助下将0.0161克试剂溶于水中并稀释至100毫升。在使用时，将此 5×10^{-4} M浓度的试剂稀至 10^{-6} M。

缓冲溶液的配制：将30毫升试剂稀释至800毫升，加入氨水调节PH至5.5，并稀释至1升。

在含有0.01—0.1微克锆的样品溶液中，加入1毫升 10^{-6} M的有色试剂。放置5分钟后加入5毫升PH=5.5的醋酸铵缓冲溶液，再稀释至100毫升，作荧光读数。 $\lambda_{ex}350nm$ ， $\lambda_{em}405nm$ 。对于试剂的本底必须进行校正。

此法灵敏度为0.0001—0.001ppm。

5. 8-羟基喹啉法⁽¹⁰⁾。

试剂与 Zr^{4+} 离子所组成的络合物的氯仿萃取液，在紫外光照射下会发生荧光。Ti、W、Mo有干扰，但可用加入酒石酸铵及HF加以消除。此法测定范围为0.1—1.1微克锆/毫升。

操作手续：

在含有5—50微克锆的样品溶液中，加入10毫升2N盐酸（溶于0.5M酒石酸中），用1：7氨水调节PH=7，然后再用1：100氨水调节PH至8.9—9.0。再稀释至45毫升并加入1毫升1%试剂溶液。静置30分钟，用氯仿分两次，每次10毫升萃取。合并两次的萃取液并用氯仿稀释至25毫升，作荧光读数。 $\lambda_{ex}398nm$ ， $\lambda_{em}520nm$ 。

6. 喹啉基荧光酮法⁽¹¹⁾。

锆与试剂形成1：4络合物。

操作手续：

在15毫升含有2—10mM锆的1NHCl溶液中，加入5毫升

2 M醋酸钠, 3 毫升 3 %Luviskol K 90 并稀释至约35毫升。再加入 5 毫升mM试剂, 稀释至50毫升, 放置 1 小时后进行荧光读数。用汞蒸汽灯激发, 在荧光峰646nm处测量。

7. 3-羟基色酮法⁽¹²⁾。

试剂与锆离子及硫酸根能形成 1 : 1 : 1 的络合物而用以荧光检测。

操作手续:

将含有 8 微克锆的样品与 5 毫升 0.02M 试剂甲醇液混合, 并加入 2 M硫酸以产生 0.2M硫酸根离子。用 1 M氢氧化钠调节PH至 1.5—2, 稀释至 25 毫升, 放置 30 分钟后读数。

8. 间羟基苯基—邻—氨基酚法⁽¹³⁾。

试剂与锆离子形成亮黄色的 1 : 1 络合物, 最佳PH是 5.45—6.05。40 分钟后在 540—545nm处作荧光读数。

9. 4-水杨叉缩氨基安替比林法⁽¹⁴⁾。

试剂与锆离子络合而用作荧光检测。

操作方法:

将 10 毫升样品溶液与 1 毫升 mM试剂混合, 用盐酸调节PH至 1.5, 稀释至 25 毫升, 然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}554nm$ 。

10. 槲皮素法⁽¹⁵⁾。

试剂能与锆形成荧光络合物而用于荧光检测。

操作时, 在 0.1—2 N盐酸中, 试剂能沉淀锆, 络合物能用噻吩甲酰三氟丙酮的二甲苯溶液萃取, 然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}440nm$, $\lambda_{em}505nm$ 。方法灵敏度为 0.05—75 微克/25 毫升。

11. 打提斯加根甙法⁽¹⁶⁾。

试剂与锆离子在稀盐酸介质中所形成的化合物, 在紫外光照射下会发生荧光。在 6 N盐酸溶液中其荧光强度最大且干扰较少。测定时将试样溶液调配为 6 N盐酸溶液, 打提斯加根甙试剂

浓度为0.001—0.003%。 $\lambda_{ex}388$, $\lambda_{em}520nm$ 。此法灵敏度为0.005—3微克锆/毫升,10倍Zr量的镓、铈、钍离子没有干扰,而10倍Zr量的铁(Ⅲ)、钛、钼(Ⅵ)离子会使荧光熄灭。

12. 3, 3', 4', 5, 7——五羟基黄酮—6'——磺酸法⁽¹⁷⁾。

试剂能与锆络合而用以荧光检测。 $\lambda_{ex}436nm$, $\lambda_{em}501nm$ 。方法灵敏度为0.2—0.8微克/5毫升。该试剂也与铪有类似反应。

三、铪的荧光分析

1. 桑色素法⁽¹⁸⁾。

在0.1N硫酸中,铪与试剂形成1:2络合物。在1N硫酸中,铪与试剂形成1:1络合物,有最强的荧光。增加有机溶剂的量,如甲醇,乙醇和丙酮,能增加荧光强度并减少吸收。锆与桑色素也能形成荧光络合物。铪在含有2M硫酸铵的1.5N盐酸的3M硫氰酸铵溶液中能用环己酮萃取与锆分离。然后用4N硫酸反萃取铪后用桑色素测定。

此法可用于等量锆存在下铪的测定:

将0.5N盐酸的样品溶液8毫升,通过装有KU—2氢型离子交换树脂的层析柱,先用50毫升水,后用20毫升0.024M柠檬酸的1N盐酸溶液淋洗。用20毫升0.5M草酸溶液提取铪。加入10毫升盐酸至提取液中并煮沸。加入4%高锰酸钾溶液至沸腾的溶液中直至永久性的棕色沉淀形成,约30毫升,以除去草酸。加入10%盐酸羟胺溶液溶解沉淀并稀释至100毫升。将13毫升盐酸和7毫升丙酮混合,加入一份样品溶液并在10℃以下冷却。再加入0.15毫升2.5mM试剂丙酮溶液,放置25分钟后,加一滴0.2M双氧水,稀至25毫升,作荧光读数。 $\lambda_{ex}436nm$, $\lambda_{em}501nm$ 。

2. 槲皮素法⁽¹⁹⁾。

在9 M高氯酸及2.5%乙醇溶液中，试剂能与铪生成荧光络合物，在紫外光照射下会发生荧光。 $\lambda_{\text{ex}}340\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}505\text{nm}$ 。锆在同样条件下不产生荧光。

此法可用来测定锆铪混合物中的铪 ($>0.3\%$)。试剂浓度为 $1.5 \times 10^{-5}\text{M}$ 时，在0.08—1.2微克铪/毫升的浓度范围内，其荧光强度与 H_f 含量呈线性关系。钛、铁(III)、钒(V)、 UO_2^{2+} 等离子有严重干扰，但可用苯乙醇酸沉淀法或用噻吩甲酰三氟丙酮萃取法分离之。

3. 黄酮醇法⁽²⁰⁾。

试剂与铪反应生成荧光团， $\lambda_{\text{ex}}365\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}460\text{nm}$ 。

此法能检测0.1ppm铪，但锆、铝、氟和磷酸根有干扰。

4. 槲皮素磺酸法⁽²¹⁾。

铪和锆一起能与试剂形成1 : 1络合物而作荧光读数。溶剂是含有30%丙酮的10N盐酸溶液。 $\lambda_{\text{ex}}436\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}501\text{nm}$ 。

遵守比尔定律浓度范围为铪0.1—0.7微克/5毫升，锆0.2—0.8微克/5毫升。钽、铬、钒、钼、铌草酸根、柠檬酸根和EDTA有干扰。

参考文献：

1. M.D.Luoue de Castro and M.Valcarcel, *Talanta*, **27**, 645—648 (1980).
2. Takushi Ito, Akira Murata, *Anal. Chim. Acta*, **113**, 343—349 (1980).
3. H.Goto, *Chem.Zb.*, **1**, 1068 (1941).
4. W.C.Alford, Leonard Shapiro and Charles E.White, *Anal. Chem.*, **23**, 1149—1152 (1951).
5. Richard A.Geiger and E.B.Sandell, *Anal.*

- Chim. Acta, 16, 346—354 (1957).
6. D.M. Hercules, Talanta, 8, 485 (1961).
 7. Tsunenobu Shigematsu, Yasuharu Nishikawa, Keizo Hiraki and Heishiro Nakagawa, J. Chem. Soc. Jap, pure chem. Sect, 85, 490—493 (1964).
 8. T.D. Filer, Anal. Chem., 43, 469—473 (1971).
 9. R.V. Hems, G.F. Kirkbright and T.S. West, Anal. chem., 42, 784 (1970).
 10. H.O. Schneider and M.E. Roselli, Analyst, 96, 330—334 (1971).
 11. E. Asmus and W. Klank, Z. Anal. chem., 265, 260—266 (1973).
 12. Takushi Ito and Akira Murate, Jap. Anal., 23, 274—280 (1974).
 13. A.T. Tashkhodzhaev, P.A. Shakirova, G. S. Andrushko and Sh. T. Talipov, Manuscript 1716—14, Moscow, 1974.
 14. Sh. T. Talipov, elal., Dokl. Akad. Naukuzb. SSR, 1975 (5), 34—35.
 15. L. Ya Polyak and I. S. Bashkirova, Zh. Anal. Khim., 19, 842—846 (1964).
 16. Cf. 陈国珍, 《荧光分析法》, p.191, 1975.
 17. A.T. Pilipenko, T.U. Kukibaev, and A.I. Vdka va, Zh. Anal. Khim., 29, 710—715 (1974).
 18. A.T. Pilipenko, T.U. Kukibeav, A.I. Vdkova and T.E. Get'man, Zh. Anal. Khim., 27, 1787—1792 (1972); Ukr. khim. Zh., 39, 813—817 (1973).

19. A.T.Pilipenko, T.U.Kukibeav and A.I. Volkova, Zh. Anal. Khim., 28, 510—515(1973); A. Brookes and A. Townshend, Chem. Commun., 24, 1660 (1968).
20. W.C. Alford, L. Shapiro and C.E. White, Anal. chem., 23, 1149 (1951).
21. A.T.Pilipenko, T.U.Kukibeav and A.I. Volkova, Zh. Anal. Khim., 29, 710—715 (1974).

第十一节 铈、铋的荧光分析

一、铈的荧光分析

(一) 概述。

铈的荧光分析法中，比较实用的有3,4',7-三羟基黄酮法、桑色素法和氧化钙熔珠法。

3,4',7-三羟基黄酮，能与 Sb^{+3} 离子生成络合物，在阳光照射下会发生荧光，桑色素同 Sb^{+3} 离子络合的原理与上述反应相同，它能用于硅酸盐矿中铈的测定，检测灵敏度为0.5—20微克。

氧化钙熔珠法，可作铈的快速定性检测。将样品加至氧化钙熔珠上，在火焰上灼烧，如有铈存在，则可在紫外光下看到淡黄色至黄绿色荧光。

铈的其它荧光试剂还有藏红及罗丹明染料。

(二) 分析方法。

1. 3,4',7-三羟基黄酮法⁽¹⁾。

在过氯酸溶液中，试剂能与铈(III)离子生成络合物，在阳光照射下会发生荧光。

铈的各种荧光分析法灵敏度比较如下

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
3, 4', 7-三羟基黄酮	荧光络合物	0.04
桑色素	荧光络合物	0.1
藏 红	三元络合物	0.015
溴络合物	三元络合物	0.01
乙基罗丹明B	三元络合物	0.0033
罗丹明B + KI	三元络合物	0.01
罗丹明 6 G	三元络合物	1.0
鲁米诺	化学发光	0.05
氧化钙熔珠	直接荧光	1×10^{-6}

操作手续：

酸性混合液的配制：在水中溶入43克六水磷酸氢二钠、5克磺氨酸和86毫升过氯酸，并稀释至500毫升。

碘化物溶液的配制：在约250毫升水中溶入0.75克碘化钠，加入35毫升硫酸，冷却，然后稀释至500毫升。此试剂溶液要在用的当天配制。

取含铈5微克的样品溶液，如存在干扰离子，则按以下操作萃取铈：取此溶液，加入1毫升17%硫酸二氢钠溶液和2滴硫酸，蒸发至约2毫升。再加入3滴25%硫酸羟胺溶液并蒸发至约0.5毫升。加入含有0.15%碘化钠的1：6硫酸25毫升，用25毫升甲基异丁基铜萃取3分钟，弃去水相。用25毫升酸性碘化物溶液清洗有机相。再用0.4N盐酸分三次，每次10毫升从有机相中反萃取铈，合并这些萃取剂。

假如样品是从卤化物中分出，则在下一步可省去加入硝酸。在样品中加入1毫升17%硫酸氢钠，5滴硝酸和2滴硫酸，加热至三氧化硫冒烟并冷却。再加入1毫升水和5滴硝酸，并再次加

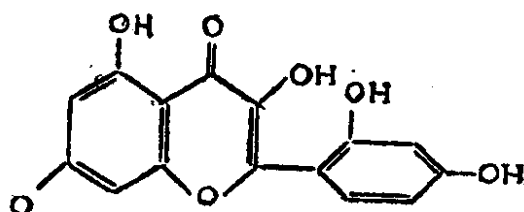
热至三氧化硫冒烟。重复这一步，加热直至将硫酸蒸发掉。在硫酸氢钠的残留物中，加入2毫升水和3滴25%硫酸羟胺溶液，煮沸直至溶液减少至0.5毫升。加入10毫升酸性混合液和2滴25%硫酸羟胺，沸腾并冷却。加入1毫升0.02%试剂乙醇溶液并稀释至25毫升。在25℃放置30分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}422\text{nm}$, $\lambda_{em}475\text{nm}$ 。用本底作参照。

此法检测铈(III)比较灵敏，可检测至0.04微克/毫升，误差2%。

锆和铪可加入原磷酸酯来掩蔽。铁离子的干扰可以这样除去：先用盐酸羟胺还原成亚铁离子，然后与磺氨酸络合。

2. 桑色素法⁽²⁾。

试剂结构：



它可与铈络合而用于荧光测定。

此法可用于硅酸盐矿中铈的检测。操作如下：在铂金坩埚中用5毫升硫酸和2毫升盐酸分解0.5克样品，蒸发至三氧化硫烟冒尽。然后放入15毫升水中，过滤，并用水洗，残渣与1克碳酸钠和1克硼砂一起熔融，然后加入1:1硫酸，如需要的话，过滤。用1:10硫酸将合并的含水酸性滤液稀释至100毫升。

取一份含铈0.5—20微克的样品溶液，与30毫升1:1硫酸混合。加入4毫升1%碘化钾溶液并稀释至50毫升。用10毫升苯

萃取，再用 10 毫升 0.2 N 盐酸从苯层中反萃取铈，再加入 1 毫升 0.05% 桑色素溶液，作荧光读数。

3. 藏红法⁽³⁾。

在 3.5N 盐酸中，五价铈与试剂形成铈(V)一藏红T一氯三元络合物，可用苯萃取后作荧光测定。

操作手续：

将含有 0.001—0.05 毫克铈的样品溶液 2—3 毫升与 0.5 毫升 10% 氯化亚锡和 7 毫升 10N 盐酸混合。用 1 毫升 10% 硝酸钠氧化铈。5 分钟后加入 1 毫升饱和的脲溶液破坏过量的硝酸盐，然后加入 1 毫升 0.1% 藏红T溶液，再稀释至 20 毫升。用 7 : 3 苯—丙酮萃取，作荧光读数。 $\lambda_{ex} 510nm$, $\lambda_{em} 570nm$ 。

此法灵敏度为：0.015—1 $\mu g/ml$ 。

铝、钍、镓离子有干扰。

4. 溴络合物法⁽⁴⁾。

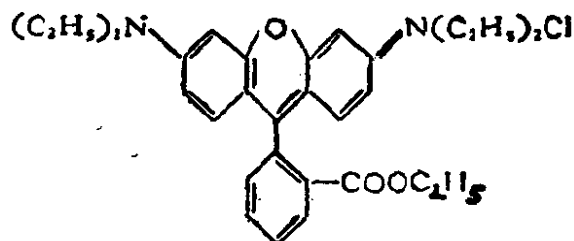
在 6 N 溴化氢中，三价铈形成铈—溴络合物，在 $-196^{\circ}C$ 作荧光检测。荧光为红色。 $\lambda_{ex} 360nm$, $\lambda_{em} 586nm$ 。

此法灵敏度为：0.01—0.25 ppm。

50 倍铈量的 Fe 离子和 30 倍浓度的碲(IV) 离子有干扰。

5. 乙基罗丹明B法⁽⁵⁾。

试剂结构：



五价铈在 2.5N 盐酸中，能形成氯铈酸离子，它能与结晶紫生成络合物，用苯萃取。然后在 8—14N 硫酸中，苯的萃取液用

乙基罗丹明B (罗丹明3B) 溶液萃取, 结晶紫被乙基罗丹明B 代替。形成的乙基罗丹明B 氯铈酸盐络合物可作荧光读数。 $\lambda_{ex}565$ nm, $\lambda_{em}595$ nm。

最佳PH条件为7N硫酸, 再加入溴化物和0.2毫克试剂/毫升。

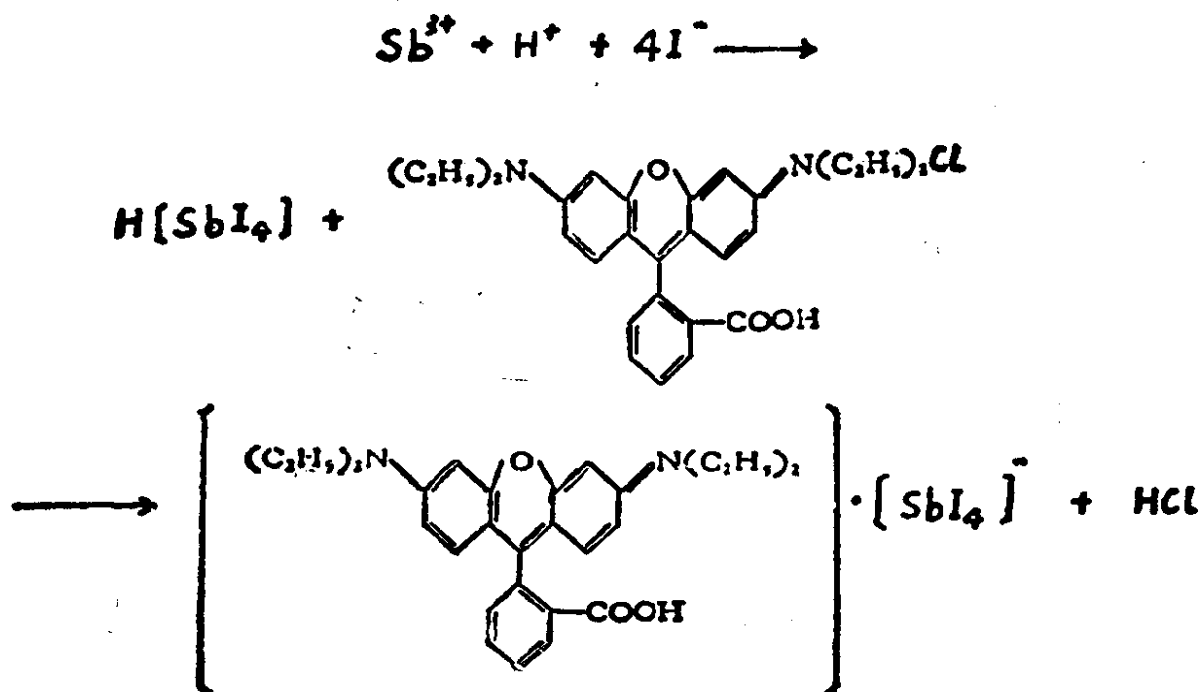
此法灵敏度为: 0.0033—0.33微克/毫升。

金(IV)和铈(III)有干扰。

6. 罗丹明B和碘化钾法⁽⁶⁾。

三价铈在过量碘化钾存在的酸性溶液中能生成 $H[SbI_4]$, 加入罗丹明B溶液后, $[SbI_4]^-$ 与罗丹明B生成紫色沉淀, 从而明显降低罗丹明B的橙黄色荧光。

反应式如下:



操作手续:

将样品溶液与0.5%罗丹明B的6N盐酸溶液及5%碘化钾水溶液混匀, 然后作荧光读数。

7. 罗丹明6G法⁽⁷⁾。

铈(V)能与罗丹明6G及氯离子形成铈(V)—罗丹明6G—氯三元络合物。用苯从6N硫酸+0.5N氯化钠中萃取,然后作荧光先读数。 $\lambda_{ex}532nm$, $\lambda_{em}555nm$ 。

此法灵敏度为: 1—20微克/10毫升。

8. 鲁米那法⁽⁸⁾。

在PH11—12时,铈(V)与试剂反应而产生化学发光。铈(V)只有以 $SbCl_6^-$ 的形式存在时才能发生反应。将铈(III)转换成铈(V)的最好氧化剂是亚硫酸钠。

此法可检测至低于0.05ppm铈。

少量的铁和铜熄灭化学发光,因此对反应发生干扰。

9. 氧化钙熔珠法⁽⁹⁾。

含铈的氧化钙的熔珠荧光体在紫外光照射下会发生荧光,可用来检测微量的铈。

操作方法:

先在铂丝小圈上粘上氧化钙乳状液,将其烧成熔珠。然后在熔珠上滴加一小滴试液,置于火焰上灼烧。冷却后,在紫外光下进行观察。如试液中含有铈,熔珠将发生淡黄色至黄绿色荧光,视铈含量而异。

此法的检出限量为 10^{-6} 微克铈。

铋、铅、汞、铊、钼、硒、碲、钨等元素也会和氧化钙生成发光体,它们的含量过高时对铈的检出有干扰。

二、铋的荧光分析

1. 磷酸伞形酮法⁽¹⁰⁾。

试剂的荧光能被铋熄灭,由此可检测铋。测定条件: PH=8. 荧光峰365nm。

此法可检测0.001—0.07毫克铋/毫升。

2. 罗丹明B法⁽¹¹⁾。

试剂的荧光能被铋熄灭，由此可检测铋。方法灵敏度为0.5微克/毫升。

参考文献：

1. T. D. Filer, *Anal. Chem.*, 43, 725 (1971) .
2. D. P. Shcherbov, I. N. Islafe'va and R. N. Plolnikova, *Zavod. Lab.*, 39, 546 (1973)
3. A. T. Pilipenko and Nguyen Mong Shinh, *Ukr. Khim. Zh.* 34, 1286 (1968) .
M. A. Matveets, D. P. shcherbov and S. D. Akhmetova, *Zh. Anal. Khim.*, 29, 740—742 (1974)
4. G. F. Kirkbright, C. G. Saw, J. V. Thompson and T. S. West, *Talanta*, 16, 1081—1084 (1969).
5. I. A. Blyum, F. P. Kalupina and, T. I. Tseuskaya, *Zh. Anal. Khim.*, 29, 1572—1576 (1974); *ibid.*, 30, 874—882 (1972) .
6. *ibid.*
7. P. R. Hadded, *Talanta*, 24, 1—13 (1977) .
8. O. Komlev and V. Zinchuk, *Referat. Zh. Khim.*, 19GD, 1968, Abstr. NO. 4 G66.
9. 陈国珍《荧光分析法》第197—198页, (1975) .
10. G. G. Guilbault, M. H. Sadar and M. Zimmer, *Anal. Chim. Acta*, 44, 361—367 (1969) .
11. R. Sivori and A. H. Guerro, *An. Asoc. Quim, Argent*, 55(3-4), 157 (1967) ,

第十二节 钒、铌、钽的荧光分析

一、钒的荧光分析

1. 间苯二酚法⁽¹⁾。

在10M硫酸中，钒与试剂能形成荧光络合物而用于荧光读数。荧光为红色。此法灵敏度为0.5ppm。铈(IV)有干扰。

2. 苯甲酸法⁽²⁾。

在微酸性介质中，钒与苯甲酸及锌汞齐反应的产物，在紫外线照射下会发生紫色荧光。方法非常灵敏，可用以测定0.5—400ppb的钒。钛与铁严重干扰。

操作手续：

含钒样品中，加入苯甲酸溶液和PH=5.2的缓冲溶液，与锌汞齐一起机械搅拌，然后用硫酸钠溶液稀释，作荧光读数， λ_{ex} 300nm， λ_{em} 410nm，遵循比尔定律的浓度范围0.5—400ppb。

3. 罗丹明B法⁽³⁾。

钒的催化作用缩短了溴酸盐-溴化物-抗坏血酸的反应时间，反应结果释出溴。在PH5的溶液中，溴的生成会使罗丹明B的荧光熄灭。利用这一效应可测定微量钒，测定范围为0.02—20微克钒/毫升。

4. 4-(2-吡啶偶氮)间苯二酚和藏红T法⁽⁴⁾。

试剂与钒能形成荧光络合物而用于检测。络合物形成的最适宜条件为：0.1mM和—10uM—钒酸钠在1M硫酸和1mM试剂溶液中，用二氯乙烷萃取络合物(PH5.5—6)。萃取剂中含40%甲醇或丙酮，荧光达最大值。荧光峰581nm。

钼(VI)、钨(VI)的干扰可加入草酸除去。检测限度为0.01微克钒/7毫升。

二、铈的荧光分析

1. 荧光镓法⁽⁵⁾。

在PH5.6—7.1的0.02N草酸溶液中，铈与试剂的丙酮溶液形成1:1络合物，络合物颜色为玫瑰红色，在紫外光照射下会发生红色荧光。 $\lambda_{ex}456nm$, $\lambda_{em}630nm$ 。

草酸和柠檬酸有干扰。遵守比尔定律的浓度范围为0.001—0.01毫克氧化铈/毫升。在双氧水或冷冻剂存在下，在1mM试剂丙酮溶液中显出红色荧光。试剂混合20—30分钟后显出荧光。在PH5—6.5时，荧光强度稳定24小时。

若在液态氮冷冻下进行测定，则络合物的荧光强度将增加近20倍。

2. 磺基萘酚偶氮间苯二酚法⁽⁶⁾。

在辅助络合剂，如硫酸，氟化物，酒石酸根和草酸盐存在下，铈与试剂形成荧光络合物有机溶剂增强荧光。

3. 形成三元络合物的方法。

近年来，在1、2两法基础上，派生一些三元络合物测铈的方法，主要是：

铈(V)—荧光镓—双氧水法⁽⁷⁾。在PH5.6—7.1时测定， $\lambda_{ex}546nm$, $\lambda_{em}640nm$ 。方法灵敏度5—10 μg 。

铈(V)—荧光镓—草酸盐三元络合物⁽⁸⁾。在PH5—6.5, 0.02N草酸中测定。 $\lambda_{ex}336nm$, $\lambda_{em}630nm$ 。检测限度1—2.5微克/10毫升。Ga⁺³、Fe⁺³、Ti(IV)、Ta(V)有干扰。

铈(V)—桑色素—双氧水三元络合物⁽⁹⁾。检测条件, PH3; 50%甲醇或25%乙醇或丙酮中。 $\lambda_{ex}436nm$, $\lambda_{em}505nm$ 。检测限度0.02—2.0 $\mu g/5ml$ 。铝(III)、镓(III)、草酸根有干扰。

铈(V)—栎精—双氧水三元络合物⁽¹⁰⁾。检测条件, PH2.1,

50%乙醇。λ_{ex}430nm, λ_{em}500nm。检测限度0.4—4.5, 微克/5毫升。

铈(V)—磺基萘酚偶氮间苯二酚—双氧水⁽¹¹⁾。检测条件: PH3.2—4.7, 反应时间1—1.5小时, 在奎尼定存在时可用丁醇萃取此络合物。λ_{ex}540nm, λ_{em}680nm。检测范围: 0.2—2.0微克/5毫升。钽(V)、草酸根、EDTA有干扰。

铈(V)—磺基萘酚偶氮间苯二酚—草酸盐(酒石酸或F⁻)⁽¹²⁾。检测条件: PH5—6.5, 10—30%甲醇, 反应时间30—80分钟, 用丁醇萃取此络合物, λ_{ex}540nm, λ_{em}640nm。检测限度0.2—2.0微克/5毫升。

三、钽的荧光分析

1. 亮绿法⁽¹³⁾。

在2N硫酸或4N磷酸中, 氟钽酸离子能与试剂络合, 可用苯萃取, 然后作荧光读数。

络合物被萃取浓缩, 然后用T基罗丹明取代络合物中的阳离子。λ_{ex}560nm, λ_{em}595nm, 钛(V)、铬(III)、锆(IV)、铈(VI)、铈(V)离子有干扰。

2. 罗丹明染料法⁽¹⁴⁾。

在五氯化铈中的钽可作为罗丹明6zh的氟钽酸络合物而被萃取至苯中, 然后作荧光读数, 碘化物, 硝酸根, 硼和铂有干扰。

三氟硅烷中钽的测定:⁽¹⁵⁾

在含有相当于0.0025—0.025微克五氧化钽的溶液中, 加入0.25毫升5%的盐酸溶液, 4毫升3%草酸铵的硫酸溶液, 0.5毫升0.02%罗丹明6zh溶液和5毫升苯, 摇荡1分钟, 分出有机层作荧光读数。λ_{ex}530nm, λ_{em}560nm。用本底作参照。

3. 桑色素法⁽¹⁶⁾。

钽与桑色素和双氧水形成荧光三元络合物, 只稳定30分钟,

必须很快地用丁醇萃取以作荧光读数。 $\lambda_{ex}436\text{nm}$, $\lambda_{em}50\text{nm}$ 。

此法检测范围：0.03—0.35 $\mu\text{g}/5$ 毫升。铈(V)、铈(IV)有干扰。

参考文献

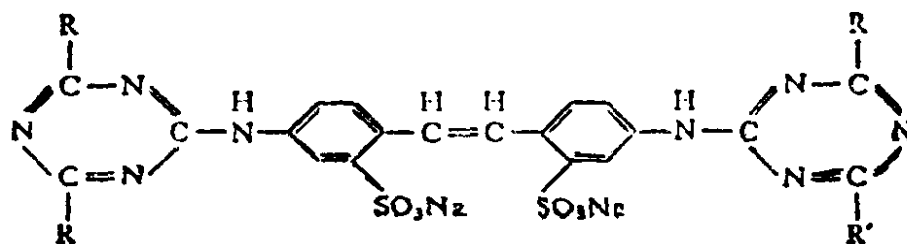
1. V. Rao and G. Rao, *Z. Anal. Chim.*, 161, 406 (1958).
2. K. J. Koh and D. E. Ryan, *Anal. Chim. Acta*, 57, 295—300 (1971).
3. J. Bognar, O. Jellinek, *Mikrochimica Acta*, 1013 (1968).
4. Shevchenko, T. L; Pilipenko, A. T. and A. I. Volkova, *Ukr. Khim. zh*, 45 (5), 456—460, 1979.
5. A. T. Pilipenko, A. I. Volkova and A. I. Zhebentyaev, *Zh. Anal. Khim.*, 26, 2048—2051 (1971).
6. *ibid*, 27 (1), 84—88 (1972).
7. 同1.
8. В. В. Климов, и др, зав. Лаб., 29, 147 (1963).
9. С. А, 1971, 74, 150774.
10. С. А, 1972, 77, 28509.
11. А. Т. Пили Пенко, и др., ЖАХ., 26, 117 (1971).
12. *ibid*., 27, 84 (1972).
13. N. V. Bausova and E. M. Lebedeva, *Tr*

- Inst. Khim., Sverdl., 1970(17), 195—200; I. A. Blyum, T. G. Pronkina and T. I. Shumova, Zh. Anal. khim., 25, 511—514 (1970),
14. E. A. Chislyakova, M. A. Desyatko and V. S. Shvarev, Nauch., Tr. Nauch-Issled. Proekt. Inst. Redkomet, Prom, 1972(42) 161—165.
15. Young S. Kim and Harry Zeitlin, Anal. Chem., 43, 1390—1393 (1971).
16. A. T. Pilipenko, A. I. Volkova and A. I. Zhebenlyayev, Ukr. Khim. Zh., 37, 578—581 (1971).

第十三节 铬、钼、钨的荧光分析

一、铬的荧光分析

1. 双碳取代的三氮嘧啶基均苯乙烯二磺酸钠法⁽¹⁾⁽²⁾。
试剂结构为：



它在PH2.5—3.5时，在紫外光照射下会发生亮蓝色荧光。它与铬(Ⅲ)离子生成络合物后，能熄灭试剂本身的荧光。由此建立铬的荧光检测法，荧光峰450nm。

此法检测灵敏度为4纳克/毫升。在EDTA存在下，大多数阳离子没有干扰，20倍铬量的银、钙、铁、钼、钡、硒、钒和浓度为 $10^{-3}M$ 的氯、氟、硝酸根、磷酸根、硫酸根等离子没有干扰。

2. 硫氰酸钾法⁽³⁾。

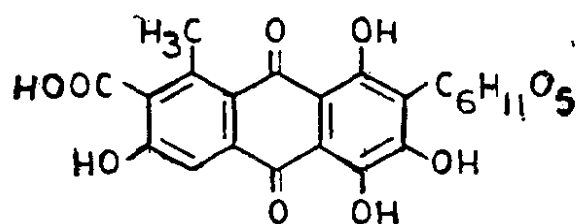
铬离子与硫氰酸根所组成的络合物的磷酸三丁酯萃取液，经液氮冷冻至 $-196^{\circ}C$ ，在紫外光激发下会发生荧光，荧光峰766nm。

适宜的溶液PH为1.0—3.0，硫氰酸钾浓度为3.0N。此法灵敏为0.0001微克铬/毫升。100倍铬量的铁(III)、钼、钒会使荧光强度略为降低。此法可用于污水中铬的测定。

二、钼的荧光分析

1. 胭脂红酸法⁽⁴⁾。

试剂结构：



它与钼酸盐所组成的络合物，在阳光照射下会发生黄色荧光。可检测0.1—0.9ppm钼。溶液PH调节为5.2， $\lambda_{ex}560nm$ ， $\lambda_{em}590nm$ 。

钨、铝、铋(III)、铍、铈(IV)，钴、镍、钒、银等元素及草酸盐，柠檬酸盐和酒石酸盐有干扰，测定时须加以分离。

此法可用于钢中钼的分析。

2. 8-羟基喹啉和四苯硼酸钠法⁽⁵⁾。

钼与8-羟基喹啉和四苯硼酸钠反应可用作荧光检测。 λ_{ex} 395 nm, λ_{em} 506 nm。方法灵敏度为0.2—1 ppm。

操作手续:

从0.1N盐酸中用氯仿萃取8-羟基喹啉钼,然后加入含过氧化氢的氢氧化钠溶液一起振荡。在没有相分离前加入盐酸和四苯硼酸钠溶液,振荡,然后分出有机相,过滤,作荧光读数。

3. 樱草灵法⁽⁶⁾。

锰酸根在指示剂樱草灵存在下可用铅滴定,从而建立了荧光滴定法检测钼,可检测低于20ppm钼。

4. 罗丹明B和硫氰酸根法⁽⁷⁾。

在1.6N硫酸和0.8N盐酸和0.8%硫氰根中,钼(VI)与试剂形成三元络合物,而用于荧光检测。 λ_{ex} 350 nm, λ_{em} 578 nm,方法灵敏度为0.05—5 微克/25毫升,无干扰。

三、钨的荧光分析

1. 罗丹明B法⁽⁸⁾。

试剂的荧光能被 WO_4^{2-} 离子所熄灭,主要因为生成钨酸盐罗丹明B三元络合物的缘故,从而建立荧光测定钨的方法。如溶液中有氯化钠存在,荧光强度减弱的程度和钨含量呈线性关系。

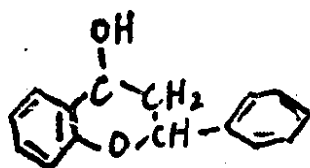
此法能检测低于1 ppm的钨。铬(III)、金(III)、重铬酸根、锰酸根、铈(III)、钒酸根、铁(III)、氟及磷酸根等离子有干扰。

操作手续:

在钨酸钠溶液中加入5毫升1N氯化钠,5毫升0.1N盐酸和5毫升0.1试剂溶液,稀释至50毫升,放置60分钟后作荧光读数。 λ_{ex} 365 nm, λ_{em} 570—640 nm。

2. 黄烷醇法⁽⁹⁾。

试剂结构:



它与钨酸根离子在PH2.5—5.5溶液中所组成的络合物，在紫外光照射下会发生蓝色荧光，荧光峰460nm。试剂也发蓝绿色荧光，荧光峰490nm。如选用适当的检测波长，可测钨至0.06—0.42微克钨/毫升。线性浓度范围：6—42微克/100毫升。钒、铁、铬等元素有干扰。

钢中钨的分析:

在盐酸中溶解0.1克样品，然后用硝酸氧化碳化物，加入甲醛还原铬酸盐至铬离子，过滤并经过钠型Dowex50W—X₄树脂的柱。将钨酸残渣溶在4%氢氧化钠溶液中并通过同样的柱子，阳离子吸附在柱上，钨以钨酸盐离子的形式与其它阳离子一起通过。以酚酞作指示剂中和提取液，加入溶在PH=4的缓冲液中的黄烷醇，在 $\lambda_{em}460nm$ 处读W与试剂的络合物。

镍钨合金中钨的测定:

在0.1克样品中加入20毫升硝酸，在沸点以下加热直至体积减少至不到1毫升。如在黄色的氧化钨中仍保留黑色的未反应的颗粒，则加入过量的硝酸并继续加热，如需要的话，用20毫升水洗容器的四边并加热。滴一滴酚酞指示剂并用40%氢氧化钠溶液中和。再加入5毫升过量的碱溶液，整个加热并用盐酸中和，滴入盐酸至指示剂刚好变色。加入1毫升盐酸并加热至溶解，冷却并稀释至1升。取10毫升整，加入5毫升0.01%试剂的二噁烷溶液并用含有1%酞酸氢钾和0.8%氯化钠的PH=4.08的缓冲液稀释至100毫升，然后作荧光读数。

3. 胭脂红酸法⁽¹⁰⁾。

试剂与钨(VI)所生成的红色络合物,在阳光照射下会发生荧光。测定时调节溶液PH值为4.6,然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}515\text{nm}$, $\lambda_{em}585\text{nm}$ 。

此法的测定范围为0.04—0.36微克/毫升。但选择性不好,许多元素有干扰。

4. 桑色素法⁽¹¹⁾。

在PH5.1时,六价钨与试剂的4%二甲亚砷溶液形成1:1络合物,能作荧光检测。荧光峰500—510nm。方法灵敏度3—48纳克。

5. 茜素磺酸钠法⁽¹²⁾。

试剂与钨酸根离子在微酸性溶液中所生成的化合物,在紫外线照射下会发生红色的荧光,荧光峰在650nm。此法的测定范围为0.5—4微克/毫升。铁(III)、铬(III)、铝(III)、钼酸根等离子有干扰。

6. 3-羟基黄酮法⁽¹³⁾。

钨与试剂反应能用于荧光检测。方法灵敏度为1ppm。

参考文献:

1. V. Temkina, E. A. Bozhev'd'nov and N. Dyatlova, Zh. Anal. Khim., 22, 1830 (1967).
2. M. Ziegler and K. D. Pohl, Z. Anal. Chem., 204, 413—420 (1964).
3. 陈国珍,《荧光分析法》p.211, 1975.
4. G. F. Kirbright, T. S. West and C. Woodward, Talanta, 13, 1637 (1966).
5. Y. Titkov, Ukr. Khim. Zh., 36, 613 (1970).
6. G. Andrushko, Z. Maksimycheva, et al,

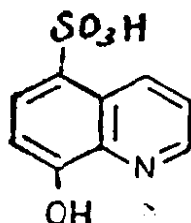
- Peferat. Zh. Chim. 1969. Abster. No. 18G 96.
7. P. R. Hadded, et a.l, Tatauta, 22, 61(1975).
 8. A. Murata and F. Yamaguchi, J. Chem, SocJapan, 77, 1259 (1956).
 9. R. S. Bottei, B. A. Trusk, Anal. Chem, 35, 1910 (1963).
 10. G. F. Kirkbright, T. S. West, and C. Woodward, Talanta, 13, 1637 (1966);
ibid., 13, 1645, (1966).
 11. A. T. Pilipenko, A. I. Zhebentyaev and A. I. Volkova, Zh. Anal. khim., 29, 1854—1856 (1974).
 12. Cf. 陈国珍《荧光分析法》, p.212, 1975.
 13. R. S. Bottei and A. Trusk, Anal. Chim. Acta, 41, 374 (1968).

第十四节 锰、锆、铈的荧光分析

一、锰的荧光分析

1. 8—羟基喹啉—5—磺酸法⁽¹⁾。

试剂结构:



它与高锰酸根离子所生成的化合物, 在紫外光照射下会发生强烈的绿蓝色荧光。此法灵敏度高, 锰含量在2.5—2500ppb范围

内，荧光强度与锰浓度呈线性关系。铈量为锰量50倍时，会使结果偏高。溶液的PH值为1—2时，锡(IV)会使荧光强度增强，但在1—2N硫酸介质中，锡(IV)含量为200ppm，对测定没有干扰。此法曾用于钢样中微量锰的测定。

操作手续：

称取含有0.25—50微克锰的试样溶液于50毫升的烧杯中，加入2.5毫升10M磷酸，1毫升 10^{-4} M硝酸银和5—10毫升2%过硫酸铵溶液，稀释至20毫升。将溶液煮沸2分钟，放1分钟，冰水冷却，然后转移至25毫升容量瓶中，用水稀释至刻度。准确移取数毫升上述溶液于另一25毫升容量瓶中，加入5—10倍的 10^{-3} M试剂溶液，稀释至25毫升，放10分钟后读数。 $\lambda_{ex}375\text{nm}$ ， $\lambda_{em}485—490\text{nm}$ 。

2. 古罗酸2,3—二酮⁽²⁾。

反应根据锰(II)在含水介质中，加速试剂被酶氧化的速率而建立锰的荧光分析法。检测限度为 $8\mu\text{M}$ 。

3. 熔珠法⁽³⁾。

含锰的熔珠荧光体在紫外光照射下会发生红色荧光，可用于测定微量的锰。制备锰熔珠荧光体时，将0.584克钨酸酐、0.286克磷酸镁一起混匀，加0.1毫升试样溶液于50毫克混合料中，干燥后，在 600°C 灼烧10分钟，继在 850°C 灼烧20分钟，退火。此法制得的荧光体，其荧光峰在 688nm ，测定范围为 $0.001—01$ 微克锰/50毫克熔珠体。

4. 四溴荧光素和1,10—菲绕啉法⁽⁴⁾。

试剂与锰(II)形成三元络合物。在 $\text{PH}=9$ 时用氯仿萃取，加丙酮至萃取液中作荧光检测。 $\lambda_{ex}540\text{nm}$ ， $\lambda_{em}580\text{nm}$ 。此法检测灵敏度为 $1—10$ 微克/10毫升。许多阳离子有干扰。

5. 8—羟基喹啉法⁽⁵⁾。

试剂与锰形成络合物，检测灵敏度为 0.002 微克/毫升。

二、锆的荧光分析

1. 丁基罗丹明B法⁽⁶⁾。

此法灵敏度为0.2微克/毫升。

三、铈的荧光分析

(一) 概述。

用于检测铈的荧光试剂，主要是罗丹明染料。罗丹明B、罗丹明6G和乙基罗丹明B，都能与高铈酸盐形成荧光络合物，产物用醋酸异丁酯或苯萃取，都能作荧光读数。

酚藏花红与藏红T也能与高铈酸盐形成络合物，用二氯乙烷萃取后作荧光检测。

吖啶橙和吖啶黄，也能与高铈酸盐络合成荧光产物。所以，铈的荧光分析，主要是以高铈酸盐的形式来测定的。

几种铈的荧光分析法检测灵敏度的比较如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度 (ppm)
吖啶橙	三元络合物	0.15
吖啶黄	三元络合物	2.0
酚藏花红	荧光络合物	0.08
罗丹明B	荧光络合物	0.01
罗丹明6G	荧光络合物	0.15
藏红T	荧光络合物	0.002
乙基罗丹明B	荧光络合物	0.02

(二) 分析方法。

1. 吖啶橙法⁽⁷⁾。

试剂与高铈酸盐生成三元荧光络合物而用于荧光检测。

操作手续：

3克矿样或残渣与9克氧化钙和1克高锰酸钾混合，在700℃灼烧3小时，取出加入5毫升水，煮沸，过滤，蒸发至很小体积，再过滤。样品溶液用磷酸调节 $\text{PH}=1$ ，加入1毫升0.002%试剂溶液并稀释至6毫升，用6毫升1,2-二氯乙烷萃取，在 $\lambda_{\text{em}}520\text{nm}$ 处测荧光。此法检测范围为0.15—40微克/10毫升。

2. 吡啶黄法⁽⁸⁾。

在高铈酸的溶液中，加入1毫升1.9mM试剂，并用 $\text{PH}=2$ 的磷酸盐缓冲溶液稀释至10毫升，用10毫升4:1二氯乙烷—乙炔丙酮萃取1分钟，将萃取物于 $\lambda_{\text{em}}495\text{nm}$ 处测荧光。此法灵敏度为2微克/毫升。用丙酮代替乙炔丙酮可得到更好的灵敏度。

3. 酚藏花红法⁽⁹⁾。

在 $\text{PH}=6$ 时，试剂可检测0.08微克/毫升的铈，络合物可用二氯乙烷萃取，其它试剂有较低的灵敏度，它们是：丁基罗丹明B的30%乙醇溶液，藏花红T的40%丙酮溶液，丁基罗丹明B水溶液如罗丹明6ZH。

4. 罗丹明B法⁽¹⁰⁾。

试剂与高铈酸盐生成络合物而用于荧光检测，铁(III)、钨(VI)、氯离子有干扰。

操作手续：

取2份铈矿样，内可含铜和钼，与一份高锰酸钾和六份氧化钙混合。在650℃加热3小时，冷却，加入热水，过滤并稀释至50毫升，取3毫升整，用磷酸调节 $\text{PH}=0.8$ ，加入罗丹明B使其含量为8.4mM，稀释至5毫升，用5毫升1:1苯—醋酸异丁酯萃取生成的1:1络合物，然后作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}560\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}590\text{nm}$ 。遵循比尔定律的浓度范围为0.01—4微克/每毫升萃取液。

5. 罗丹明6G法⁽¹¹⁾。

试剂与铈组成的络合物，经苯萃取后，萃取液在紫外线照射下发绿色荧光。此法曾用于矿石中微量铈的测定，测定范围为0.15—5微克/毫升苯萃取液。

操作手续：

将2克含0.002—0.0005%铈的矿样，如含0.005—0.12%，则取0.1克，与3克氧化镁和0.1克高锰酸钾一起研磨2小时，用50毫升水煮沸10分钟，过滤，加入10毫升10N硫酸，并稀释至100毫升。取此液25毫升整，加入1毫升0.1%试剂溶液，用6毫升苯萃取生成的1:1络合物，过滤，滤液用于读数。 $\lambda_{ex}480-530nm$ ， $\lambda_{em}550-560nm$ 。

6. 藏红T法⁽¹²⁾。

在PH 4—8时，25—30M的试剂与浓度至少是2 mM的高铈酸盐形成1:1络合物，络合物可用二氯乙烷萃取，然后作荧光读数， $\lambda_{ex}515nm$ ， $\lambda_{em}560nm$ 。荧光量子效率是23%，如加入40%丙酮，可增加至33%。此法灵敏度为0.002—0.1微克/毫升。

7. 乙基罗丹明B法⁽¹³⁾。

试剂与铈所生成的络合物的苯萃取液，吸收560—565nm射线后发生黄色荧光。此法测定范围为0.02—0.3微克铈/毫升萃取液。

操作方法：

100:1氧化镁—高锰酸钾在900℃灼烧。取6克与4克含钼不超过30毫克的铈矿石一起在650℃灼烧2小时，冷却，用50毫升水煮沸。如果溶液无色，则加0.1%高锰酸钾直至粉红色。过滤，加入9毫升磷酸，2滴0.1%高锰酸钾溶液和5毫升0.1%乙基罗丹明B溶液。用苯分两次，每次25毫升。用15毫升1 M磷酸反萃取铈。加入1毫升0.1%染料溶液，用6毫升苯再萃取铈。

然后读数。 $\lambda_{ex}560-565nm$, $\lambda_{em}590-595nm$ 。

参考文献:

1. B. K. Pal and D. Ryan, *Anal. Chim. Acta*, 47, 35 (1969) .
2. Verne L. Biddle and E. L. Wehry, *Anal. Chem.*, 50 (7), 867, 1978.
3. Е.А.Божев. льнов, О.А.Ракева, 《 Методы анализа химических Реак Тивов и препаратов 》 , Выр, 11, ИРЕА, 1965 СТР 62,
4. Д. Н. Лисицына, и др., *ЖАХ.*, 23, 1203 (1973) .
5. B. K. Pal and D. E. Ryan, *Anal. Chim. Acta*, 47, 35 (1969) .
6. C. E. White and A. Weissler, *Fluorescence Analysis—A Practical Approach*, Dekker, New. York, 1970.
7. L. A. Grigoryan, A. G. Gaibakyan and V. M. Tarayan, *Dokl. Akad. Nauk. Arm. SSR* 54, 229—231 (1972) .
8. V. M. Tarayan and A. G. Gaibakyan, *Arm. Khim. Zh.*, 26, 812-816 (1973) ; L. A. Grigoryan, A. G. Gaibakyan and V. M. Tarayan, *Zavod. Lab.*, 40, 136—139 (1974) .
9. A. T. Pilipenko, A. I. Volkova and T. L. Shevchenko, *Ukr. Khim. Zh.*, 41, 1190—

1196 (1975) .

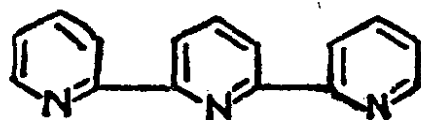
10. L. A. Grigoryan, S. P. Lebedeva and V. M. Tarayan, *Arm. Khim. Zh.*, 28, 540—545 (1975) .
11. A. I. Ivankova and D. V. Shcherbov, *Zavod. Lab.*, 29, 787—789 (1963) ; L. A. Grigoryan, L. G. Mushegyan and V. M. Tarayan, *ibid.*, 42, 1038—1039 (1967) .
12. A. T. Pilipenko, A. I. Volkova and T. L. Shevchenko, *Zh. Anal. Khim.*, 28., 1524—1529 (1973) .
13. I. A. Blyum and N. A. Brushteim, *Zavod. Lab.*, 36, 1032 (1970) .

第十五节 铁、钴、镍的荧光分析

一、铁的荧光分析

(一) 概述.

铁的荧光分析法, 主要是荧光熄灭法。Fe³⁺离子, 能熄灭一些试剂的荧光。例如, 2, 2', 2''-三吡啶法。



试剂水溶液在紫外光照射下会发生强烈的紫外荧光, 铁离子的存在将导致荧光的熄灭。

属于这种类型的有AL—PBBR法, 胭脂虫红法, 蔡并黄酮法及罗丹明S法等。

Fe^{+3} 离子也能催化氧化一些有机试剂，导致产生荧光和荧光熄灭，这类反应灵敏度较高。

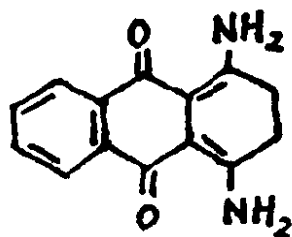
铁的各种荧光分析法的检测灵敏度如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
1,4—二氨基—2,3—二氢蒽醌	催化	0.05
4,4'—二氨基—(N,N,N',N'—四乙酸)—芪—2,2'—二磺酸	催化	0.001
AL—PBBR	荧光熄灭	0.02
2,2',2''—三吡啶	荧光熄灭	0.05
苯二甲酸氢钾	荧光络合物	0.001
四溴荧光素 + 1,10—菲啰啉	三元络合物	1.0
胭脂虫红	荧光熄灭	1.0
蔡并黄酮	荧光熄灭	1.0
罗丹明S	荧光熄灭	1.0

(二) 分析方法.

1. 1,4—二氨基—2,3—二氢蒽醌法⁽¹⁾。

试剂结构：



它在中性或稍酸性介质中产生黄色荧光，在铁离子存在下，能催

化氧化试剂而产生强的绿色荧光，由此建立铁（Ⅲ）的荧光检测方法。

试剂浓度为 $4 \times 10^{-4} \text{M}$ (0.1克/升) 乙醇溶液。

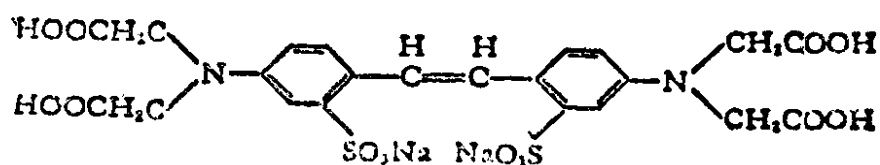
缓冲溶液采用 $\text{PH} = 3.4$ 盐酸—酞酸氢钾缓冲剂。

操作手续：

在50毫升烧瓶中放入0.2毫升 $4 \times 10^{-4} \text{M}$ 试剂，2毫升 $\text{PH} 3.4$ 的缓冲剂和适当体积的铁（Ⅲ）离子溶液（铁（Ⅲ）离子的最终浓度为0.05—0.6ppm）。如需要的话，在加入铁离子后，加入一些去离子水，使最终体积达到4毫升（事先均需在 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温），然后测荧光。 $\lambda_{\text{ex}} 400 \text{nm}$, $\lambda_{\text{em}} 470 \text{nm}$ 。铂、铈、铊、金等离子有干扰。

2. 4,4'-二氨基—(N, N, N', N'—四乙酸) 芪—2,2'-二磺酸法⁽²⁾。

试剂结构：



它的酸性溶液在紫外光照射下会发生蓝色荧光。荧光峰450nm。溶液中如含有双氧水，微量铁离子的存在将发生催化作用，促使双氧水和试剂发生反应，从而导致溶液荧光的熄灭。在加入试剂之后10或15分钟，立即加入EDTA以阻止铁离子的催化作用，这样一来溶液荧光减弱的程度就和铁（Ⅲ）离子浓度呈线性关系，据此可测定铁的含量，最适宜的反应条件：乙醇浓度0.03—0.17N，双氧水浓度0.06%，试剂浓度 $2.0 \times 10^{-5} \text{M}$ 。此法具有高灵敏度和高选择性的优点。灵敏度达到0.001微克铁/毫升。

此法曾用于水、氯化钾、氯化铯等盐类中微量铁的测定。

操作手续：

取10毫升蒸馏水试样于铂坩埚中，蒸发至剩下1—1.5毫升，转移至一试管中，加入0.2毫升3%双氧水，用1%醋酸稀释至2毫升。加入3.0毫升 2×10^{-5} M试剂溶液（由1毫升0.002M试剂溶液与1毫升冰醋酸稀释至100毫升），混匀，记下试剂加入的时间，经15分钟，加入0.1毫升0.001MEDTA溶液，摇荡，然后在紫外光激发下，于450nm处测量荧光强度。再由工作曲线求出铁含量。

3. 溴铬蓝黑R染料法⁽³⁾。

铝离子与试剂在微酸性溶液中，生成AL—PBBR络合物，在 $\lambda_{ex}400$ nm射线照射下会发生橙色荧光。荧光峰590nm。由于铁离子的存在，荧光将急剧减弱，这是由于铁离子破坏了AL—PBBR络合物，而和PBBR组成了比AL—PBBR更为稳定但不发生荧光的Fe—PBBR络合物的缘故。荧光强度下降的程度与铁离子浓度呈线性关系。

此法灵敏度为0.02—0.2微克铁/毫升，氟和磷酸根离子有严重干扰。钴、铜、锰、镍、钛、铅， VO_3^- 等离子也有干扰，须加以分离。

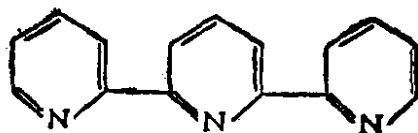
操作手续：

试剂配制：溶解30毫升钾铝矾，加入12.5克醋酸铵。加入1：1硫酸直至溶液澄清。再加入37.5毫升0.1%试剂乙醇溶液，并稀释至100毫升。

将含有0.5—10微克铁样品溶液稀释至15毫升，加入2毫升试剂并调节PH至 4.8 ± 0.1 ，加热至近沸，冷却并稀释到25毫升。用紫外线灯激发，在595nm处作荧光读数。

4. 2,2',2''—三吡啶法⁽⁴⁾。

试剂结构：



它的水溶液在紫外光照射下会发生强烈的紫外荧光，铁(Ⅲ)离子的存在将导致荧光的熄灭。据此可测定微量铁(Ⅲ)离子。 $\lambda_{ex}313\text{nm}$, $\lambda_{em}350\text{nm}$ 。

反应最佳PH值为3.6，方法测定范围为0.05—0.5微克铁/毫升。

铬(Ⅱ)，铜(Ⅱ)和镍(Ⅱ)有干扰。

5. 苯二甲酸氢钾法⁽⁵⁾。

在锌汞齐存在下，铁(Ⅲ)离子能与试剂作用而生成会发生荧光的产物，荧光峰415nm。方法测定范围为0.001—0.4微克铁/毫升。钒(V)和钛(Ⅳ)有严重干扰，此法可用于海水中铁的测定。

6. 四溴荧光素及1,10-二氮菲法⁽⁶⁾。

Fe^{3+} 离子能与试剂形成三元络合物，用氯仿从PH=9的溶液中萃取。再加丙酮至萃取液中，作荧光读数。 $\lambda_{ex}540\text{nm}$, $\lambda_{em}580\text{nm}$ 。此法灵敏度为1—10微克/10毫升。许多阳离子有干扰。

7. 其它方法。

胭脂虫红法⁽⁷⁾。荧光熄灭法，检测灵敏度为1.0ppm。

萘并黄酮法⁽⁸⁾。荧光熄灭法，检测灵敏度为1.0ppm。

罗丹明S法⁽⁹⁾。荧光熄灭法，检测灵敏度为1.0ppm。

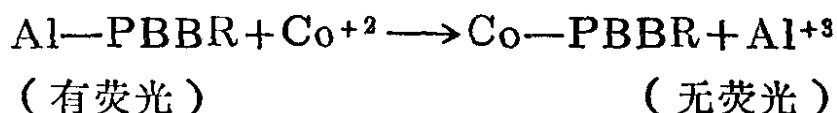
试卤灵⁽¹⁰⁾法。

二、钴的荧光分析

(一) 概述。

钴的荧光分析法，主要有荧光熄灭法，催化反应及形成荧光络合物或荧光三元络合物的方法。

荧光熄灭法中，主要是钴(II)离子存在将引起 Al—滂 铬 蓝黑R络合物的荧光强度显著降低。这是由于钴离子破坏了AL—PBBR络合物，而组成了Co—PBBR络合物的缘故。反应式示意如下：



还有一些铝与有机配合体形成的荧光络合物，也能被钴(II)离子熄灭其荧光。

各种钴(I)离子的荧光分析法灵敏度比较如下：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
Al—PBBR	荧光熄灭	0.001
媒染黑17	荧光熄灭	0.5
水杨基荧光酮 + H ₂ O ₂	催化	0.0001
PAN	荧光络合物	0.6
光泽精	催化	0.2
四溴荧光素 + 1,10-菲绕啉	三元络合物	0.1
PAPHY + 四溴荧光素	三元络合物	0.08

(二) 分析方法。

1. Al—PBBR法⁽¹¹⁾。

在微酸性溶液中，Al—PBBR络合物，在 λ_{ex} 400nm射线照

射下会发生橙色荧光，荧光峰590nm。由于 Co^{2+} 离子存在，荧光将明显降低，这是由于钴离子破坏了Al—PBBR络合物，而组成了Co—PBBR络合物的缘故。灵敏度可达1ppb。用戊醇萃取络合物可得到更灵敏的结果。

铬酸根和铝有干扰。

操作手续，参照铁的荧光分析法3。

2. 媒染黑17法⁽¹²⁾。

原理同1法。钴(II)离子能熄灭Al与试剂生成的络合物的荧光。在PH=4.8时，作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}365\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}405\text{nm}$ 。此法可检测0.5—10微克钴/50毫升。

3. 水杨基荧光酮和双氧水法⁽¹³⁾。

二价钴离子对试剂和过氧化氢反应起催化作用，可用来测定微量钴。

此法的适宜条件是：溶液PH值为10—11，双氧水的浓度为 $3.5 \times 10^{-2}\text{M}$ ，水杨基荧光酮的浓度为 $2 \times 10^{-5}\text{M}$ ，反应时间3—10分钟。在某一给定时间，在0.0001—0.01微克钴/毫升的范围内，钴离子存在与不存在时的荧光强度比值的对数与钴(II)离子浓度呈线性关系。铁(III)、镧(II)、铝(III)、镍(II)、铜(II)、铬(VI)、钨(VI)、锆(IV)离子与该试剂生成牢固的络合物，因而对此法有干扰。EDTA常被用作催化反应的阻化剂。测定中，于反应10分钟时，往标准系列与试样溶液中同时加入EDTA溶液，然后在紫外光照射下于550nm处测量荧光强度。

此法曾用于锂、铯盐中钴的测定。

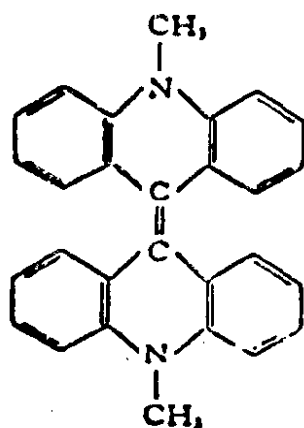
4. PAN法⁽¹⁴⁾。

钴离子在95%以上的乙醇介质中被空气氧化后，与试剂所生成的产物在紫外光照射下会发生荧光，荧光峰436nm。可用来测定微量钴。方法的灵敏度与乙醇的浓度有关，在95%乙醇时测定

下限为0.6微克钴/毫升，在无水乙醇时测定范围为0.06—60微克钴/毫升，铁(Ⅲ)、镉(Ⅱ)、镍(Ⅱ)、铝(Ⅲ)等离子对此法没有干扰。

5. 光泽精法⁽¹⁵⁾。

试剂结构：



它在酸性溶液中会发生绿色荧光，但在碱性溶液中则转化为一不发生荧光的中醇碱，后者与过氧化氢作用形成一种过氧化物，这种过氧化物放出氧而成为一个会发生绿色荧光的活性分子。钴(Ⅱ)离子对这一反应具有催化作用，溶液的荧光强度和钴(Ⅱ)离子浓度有关。

操作时，往含有钴(Ⅱ)离子的试样中加入0.05%光泽精，0.1%过氧化氢，0.5N氢氧化钠溶液各1毫升，与在同样条件下配制的标准系列进行比较，可以测定钴含量。

此法测定范围为0.2—12微克钴/毫升。银、铜、镉、锌、铁(Ⅲ)、氰根、铀酰等离子对此法有干扰。

6. 四溴荧光素和1,10-菲绕啉法⁽¹⁶⁾。

在钴与1,10-菲绕啉的络合物中加入四溴荧光素，则生成荧光三元络合物。在PH9时用1:1氯仿—丙酮萃取，然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}540nm$, $\lambda_{em}558nm$ 。

此法灵敏度为0.1—1 微克/10毫升。许多阳离子有干扰。

7. 吡啶—乙醛—2—吡啶基脒(PAPHY)和四溴荧光素法⁽¹⁷⁾。

二价钴离子与试剂形成三元络合物，在PH5.6和0.0025% PAPHY中用氯仿—丙酮(7:5)萃取，然后作荧光读数。 λ_{ex} 530nm, λ_{em} 558nm。

此法灵敏度为0.08—4 微克/10毫升。铜(II)、镍(II)、Fe(III)、镉(II)、汞(II)等离子有干扰。

三、镍的荧光分析

1. 铝—PAN法⁽¹⁸⁾。

铝—PAN络合物在紫外光照射下会发生荧光，荧光峰570 nm。在镍(II)离子存在下，该络合物的乙醇溶液的荧光将被熄灭。这是形成了更为稳定但不发荧光的Ni—PAN的缘故。此法比原子吸收法灵敏，检测范围达 10^{-9} — 10^{-7} M，基本上没有干扰。

操作手续：

将Al—PAN的浓度调为 1×10^{-3} M，然后将试样溶液与试剂、乙醇三者混合放置4小时，或在40℃水浴上加热40分钟。冷却后作荧光检测， λ_{ex} 355或550nm, λ_{em} 570nm。

2. 四溴荧光素和1,10—菲绕啉法⁽¹⁹⁾。

在镍(II)与1,10—菲绕啉的络合物中加入四溴—，四碘—，或二氯四碘荧光素，可生成三元络合物。在PH=9时用1:1氯仿—丙酮萃取，作荧光读数。 λ_{ex} 540nm, λ_{em} 580 nm。

此法比分光光度法高一个数量级，灵敏度可达0.05—10微克/10毫升。许多阳离子有干扰。

参考文献:

1. F. Salinas, C. Genestar, F. Grases, *Anal. Chim. Acta*, 130, 337—344 (1981).
2. 陈国珍, 《荧光分析法》p. 218, 1975.
3. J. Block and E. Morgan, *Anal. Chem.*, 34, 1647—1650 (1962).
4. D. Fink, J. Pivnichny and W. Ohnesorge, *Anal. Chem.*, 41, 833 (1969).
5. K. J. Koh, D. E. Ryan, *Anal. Chim. Acta*, 54, 303 (1971).
6. Д. Н. Лисицына, и др., *ЖАХ.*, 28, 1203 (1973).
7. H. Goto, *Sci. Rept. Tohoku Imp. Univ.*, **Ser. 1**, 29, 204 (1940).
8. P. Dancknortt and J. Eisenbrand, *Lumineszenzanalyse in filtriertem ultravioletten Licht*, Leipzig, 1956.
9. *Tableaux des reatifs pour l'analyse minérale, report of the International Commission on New Reactions and Analytical Reagents*, Paris, 1948.
10. D. Fink, J. Pivnichny, and W. Ohnesorge, *Anal. Chem.*, 41, 833 (1969).
11. J. de Albinati, *Anales Assoc. Quim. Argentina*, 55, 61 (1967).
12. S. B. Zamochnick and G. A. Rechnitz, *Z. Anal. Chem.*, 199, 424—429 (1963).

13. E. A. Bozhevo'nov and S. U. Kreingold, Tr. Vses. Nauchn. Issled. Inst. Khim. Reakt. Osob. Chist. Khim. Veshchestv, 26, 204 (1966).
14. G. H. Schenk, K. P. Dilloway and J. S. Coutler, Anal. Chem, 41, 510 (1969)
15. J. Bogn'ar, L. Sipos, Mikrochim. Acta, 442, (1963).
16. Д. Н. Лисицына, и ср., ЖАХ., 28, 1203 (1973).
17. P. R. Haddad, et al., Talanta, 23, 275 (1976).
18. G. Schenk, K. Dilloway and J. Coulter, Anal. Chem., 41, 510 (1969).
19. Д. Н. Лисицына, и др., ЖАХ., 28, 1203 (1973).

第十六节 钨、钼、铀的荧光分析

一、钨的荧光分析

1. 1,10-菲绕啉法⁽¹⁾.

试剂在还原剂存在下能与三价钨形成一种稳定的强颜色产物。三(1,10-菲绕啉)钨离子,可用以荧光读数。检测限度为0.1ppm.

操作手续:

取5毫升含有0.05—3微克钨的样品溶液,调节PH至1.8—2.0。样品中可能含有100微克铁、铋、铜或镍。用1:2乙酰丙酮—氯仿分三次,每次5毫升萃取铁。然后用氯仿分两次,每

次5毫升清洗。加入0.3毫升1% EDTA溶液掩蔽铋、铜和镍，1毫升0.2%试剂溶液，0.5毫升5%盐酸羟胺溶液和1毫升20%氯化钠溶液。用20%氢氧化钠溶液调节PH=7并稀释至10毫升。在100℃加热2.5小时，调节体积至10毫升后作荧光读数。 λ_{ex} 450nm, λ_{em} 620nm。

2. 5-甲基-1,10-菲绕啉法⁽²⁾。

三价钨与试剂能生成螯合物，在紫外光照射下会发生橙红色荧光而用于检测。 λ_{ex} 465nm, λ_{em} 577nm。

此法灵敏度为1 ppm。干扰离子有银、铈、铁、钼和重铬酸根，高锰酸根等。

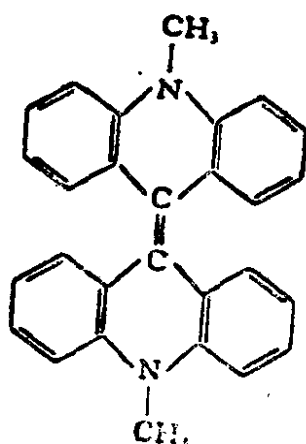
操作方法：

样品溶液的配制和上法相同。加入15毫升0.1%试剂溶液，20毫升20%氯化钠溶液和5毫升10%盐酸羟胺溶液，用20%氢氧化钠或盐酸调节PH=6并回流3小时，然后作荧光读数。

二、钼的荧光分析

1. 光泽精法⁽³⁾。

试剂结构：



在双氧化钨存在下，试剂能用以荧光测定1—60微克/毫升八价的钼。其反应机理为O₂O₄和钼(II)离子一样，对于光泽精和

过氧化氢的反应具有催化作用。

2. 5—氨基—4,6—二(甲巯基)嘧啶法⁽⁴⁾。

试剂的荧光能被四氧化钨所熄灭,可检测的浓度范围为0.5—2.5ppm,标准溶液:硫酸奎宁的0.1N硫酸溶液。

三、铀的荧光分析

1. 2,2,'2',—三吡啶法⁽⁵⁾。

铀和试剂能生成荧光络合物,在紫外光照射下发生绿色荧光。 λ_{ex} 365nm, λ_{em} 520nm。铁、铈、钒和钨有干扰。方法灵敏度为2—20微克铀/毫升。

操作方法:

把含有试剂与待测的铀的乙醇—水溶液加热2—2.5小时,加入PH=9的氨—氯化铵缓冲溶液用氯仿萃取,然后作荧光读数。

2. 铈离子法⁽⁶⁾。

在25毫升0.5N硫酸中,250微克铈离子可在铀的催化下被三价砷或锑还原成亚铈离子。反应混合物在253.6nm处激发,在360nm处作荧光读数。用三价的砷时,荧光的增强正比于铀的浓度,在20℃时为0.1—0.8微克/25毫升;在60℃时为0.01—0.08微克/25毫升。用锑时,浓度范围为35℃时0.01—0.08微克/25毫升;20℃时为0.05—0.4微克/25毫升。

3. 8—羟基喹啉法⁽⁷⁾。

铀离子与8—羟基喹啉所生成的络合物的氯仿萃取液,在紫外光照射下会发生绿色荧光,方法的测定范围为1—16微克铀/毫升。8—羟基喹哪啶亦被用作铀的荧光试剂,此法测定范围为0.2—2微克铀/毫升。铁(III)、铜、镍、锌等离子对这两种方法均有干扰。

4. 罗丹明B法⁽⁸⁾。

它与 IrBr_6^- 离子在4 N硫酸介质中所生成的络合物,用苯萃取后可进行荧光测定。此法的检测范围为0.02—0.4微克铱/毫升。在苯萃取之前加入5%丙酮可提高方法灵敏度。

参考文献:

1. D. P. Shcherbov, G. P. Gladysheva and A. I. Ivanhova, *Zavod. Lab.*, 37, 1300—1303 (1971).
2. H. Veening and W. Brandt, *Anal. Chem.*, 32, 1426 (1960).
3. J. Bognar and L. Sipos, *Mikrochim. Ichonoanal. Acta*, 1963, 1066—1071.
4. Stuart Burchett and Clifton E. Meloan, *Anal. Lett.*, 4, 471—477 (1971).
5. D. Fink and W. Ohnesorge, *Anal. Chem.*, 41, 39 (1969).
6. D. P. Shcherbov, D. B. Inyutina and A. I. Ivankova, *Zh. Anal. Khim.*, 28, 1372—1375 (1973).
7. R. Bock, H. G. Hackslein, *Z. Anal. Chem.*, 138, 337 (1953).
8. A. K. Бабко, З. И. Чалая, *Журнал*, 1963, 18, 570.

第四章 稀土及铀、钍的荧光分析法

第一节 稀土及铀钍的荧光分析法概述

稀土元素主要是镧系元素。但是钇的性质与镧系相似，且在矿物中与镧系共生，所以通常把钇包括在稀土元素中。在介绍金属离子的荧光分析时，已把铀、钍单独作了介绍，故本章只介绍镧系元素。锕系元素都具有放射性，限于样品来源及特殊的实验要求，许多锕系元素的分析方法不是在一般的实验室所能做到的，所以这里只介绍最主要的两种元素，即铀和钍。

稀土及铀钍的荧光分析法。主要有两种类型。一种是直接荧光法，一种是间接荧光分析法，在直接荧光法中，又分直接测量溶液的荧光和熔珠法两种。

一、稀土元素及铀在溶液中的荧光

Zaidel和Lavionov研究了在溶液中稀土元素的荧光。发现许多稀土元素在溶液中都具有荧光，并能作直接的测量，用于它们的直接分析。其中，铽、钆和铈能出现很强的荧光。因此，直接检测它们在溶液中的荧光，能成为检测这些元素离子的最灵敏的方法。铽的检测灵敏度可至10ppb到1ppm数量级；铈在溶液中可检测至10ppb数量级。对镨、镱、钐来说，其荧光较弱，检测灵敏度较低。

钆的荧光峰在311nm处。

铈盐的荧光峰较宽，在330到402nm处。

铈和铽的荧光光谱由几个特征谱带组成，它们的溶液各自出现红色和黄绿色荧光。

为了检测稀土元素在溶液中的荧光，常用配有光电倍增管的Beckman分光光度计进行。由于仪器的灵敏度很高，可检测很低浓度的稀土元素。如检测钍中的铈和镨，镨中的铽和钷等，方法精确度很高，误差只有±1.5—2%，表4—1列出了许多稀土元素的检测灵敏度。

表4—1 稀土元素的直接分析

元素名称	最小检测量(克)
镨	2.5×10^{-10}
铽	5×10^{-7}
钐	5×10^{-11}
铈	2.5×10^{-10}
钷	1×6^{-10}
铽	2.5×10^{-9}
镨	2.5×10^{-9}
铈	5×10^{-9}
铽	5×10^{-9}

铈化合物在溶液中是荧光物。但是铈和铈酸盐的四价盐在溶液中没有荧光，所以观察在溶液中铈化合物的荧光时，需要将它转换成铈酰化合物。有人也研究了在浓酸中检测铈的荧光，可用于检测生物样品中的微量铈。测定时先将铈作为铈—蛋白质的络合物沉淀出来，然后作荧光测量。

二、稀土和铀在熔珠中的荧光

稀土元素和铀在熔珠中都产生特殊的荧光，如稀土元素在硼砂和磷酸中能产生各种颜色的荧光。因此，观察在磷酸和硼砂熔珠中的荧光，可以很方便地作稀土元素的定性分析。Haitiger研究了用熔珠方法检测稀土元素，其检测结果列于表4—2中。

表4—2 在硼砂和磷酸熔珠中稀土元素的荧光分析

元素名称	检测限度(微克)	最小检测浓度
铈	0.4	1 : 10000
钐	4.5	1 : 1000
铈	20.0	1 : 500
钐	15.0	1 : 100
铈	2.0	1 : 5000
铈	4.5	1 : 1000

作者用仪器观察到许多盐的荧光光谱中有三至六个独立的峰值。例如，铈有三个谱带：酱红、橙色和黄色。钐有六个谱带：暗红、酱红、橙色、黄色、绿色和蓝绿色。钐的光谱特征也与它相似。铈的硼砂熔珠显现亮蓝色荧光，具有连续光谱，峰值在450nm处。

使用氧化钙在无色的氢火焰中燃烧，也可用于稀土的检测，如有稀土元素存在则出现荧光火焰，荧光是由于在氢火焰中元素分子的低电子被激发而造成的。

在熔珠中检测铀已被广泛在实验室和现场使用。常用的熔珠

有氟化钠熔珠、氟化钾熔珠。使用此种方法的主要研究课题是增加灵敏度，找出影响熔珠中铀酰荧光亮度的因素以及消除铀化合物在同样品分离时及放入熔珠中时产生的干扰。

在氟化钠中加入2%氟化锂，可以代替碳酸盐熔融，用于测定天然水中的铀。

用熔珠方法检测矿岩中的铀，灵敏度可达每1克矿样中1微克数量级。有人利用含有盐析剂硝酸铅的乙酸乙酯萃取硝酸铀酰检测少量的铀酰离子。操作时，将整个有机相吸取到含有氟化钠的铂金坩锅中，蒸发后熔融。测量熔块的荧光，可检测低于30ppb的铀。

三、稀土及铀钍的间接荧光分析

稀土及铀钍的间接荧光分析常有与有机试剂生成荧光络合物的方法，以及熄灭试剂的荧光的方法。许多方法已被在实际工作中采用。在矿物分析中，由于很多元素共存，因此在分析中必须采用适宜的分段手段。它们的具体分析方法，在下面两节加以介绍。

第二节 稀土元素的荧光分析

关于稀土元素的荧光分析方法，首先介绍通用的分析方法，然后按各元素的分析方法分别叙述。

一、稀土元素的通用荧光分析法

1 荧光法(1)。

对于铯，将氯化物溶于1.5M碳酸钾中测量， $\lambda_{ex}245\text{nm}$ ，测 $\lambda_{em}550\text{nm}$ 。此法灵敏度0.3—70微克/毫升。

对于铊， $\lambda_{ex}400\text{nm}$ ， $\lambda_{em}620\text{nm}$ ，此法灵敏度4—800微

克/毫升。

测量铯的操作手续：

草酸盐试剂的配制：在水中溶解0.333克草酸钾($\cdot 1 \text{H}_2\text{O}$)，2.38克四硼酸钠($\cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)和12.7毫升0.5N盐酸，并稀释至100毫升。

将稀土氧化物样品溶在10毫升温热的2.5N盐酸中并稀释至250毫升。取1毫升整，与3毫升草酸盐试剂混合并加入1毫升0.01N盐酸，使其 $\text{PH}=7.8$ ，然后作荧光测量， $\lambda_{\text{ex}}255\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{ex}}545\text{nm}$ 。

2. 安替比林法⁽²⁾。

试剂可用于检测稀土元素。对于镧酸盐中的铯，其检测方法如下：在盐酸中溶解25毫克样品并稀释至50毫升。取1毫升整，与0.3毫升4%己胺溶液，0.75毫升0.2M安替比林溶液，0.2毫升0.4%四苯硼酸钠溶液和0.3毫升1%明胶溶液混合，稀释至10毫升，在543nm处作荧光读数。

3. EDDHA法⁽³⁾。

在 $\text{PH}7.5-7.8$ 三乙醇胺缓冲溶液中，试剂与铯形成1:1络合物，可用以荧光检测。 $\lambda_{\text{ex}}295\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{ex}}545\text{nm}$ 。此法灵敏度为：0.0015—0.015微克/毫升。

4. 己氟丙酮法⁽⁴⁾。

在3毫升稀土溶液中($\text{PH}=3$)，加入3毫升 $6 \times 10^{-4}\text{M}$ 试剂的甲基环己烷溶液。再加入3毫升0.01M氧化三辛基磷的甲基环己烷溶液，摇荡后分出有机层并作荧光测量。

其它稀土元素不能产生有用的荧光。有效克分子浓度在 10^{-4} — 10^{-7} 数量级。

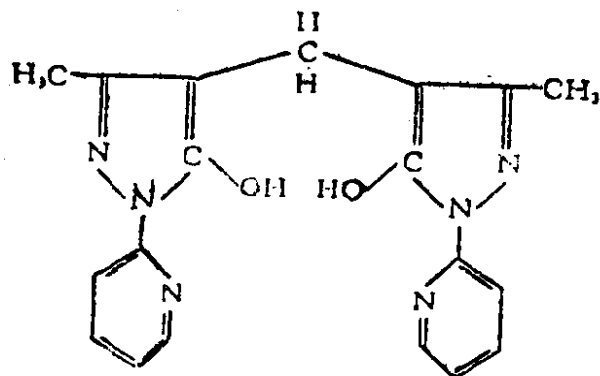
稀土元素	激发峰 (nm)	荧光峰 (nm)
钐	350	565
铈	360	615
铽	350	550

5. 1, 1, 1, 5, 5, 5-六氟戊二酮法⁽⁵⁾。

将一份含50—4000 ng的铽样品溶液中和，加入0.2毫升1%试剂乙醇溶液，放置5分钟后用乙醇稀释至50毫升。在312 nm处激发，使用430切割滤光片，于 λ_{em} 544 nm处测荧光。灵敏度为1 ppb。必须除去氟化物的存在，硫化物和硫酸盐必须低于0.6 ppm。其它容许量是：溴离子0.5 ppm；钴、镍、硫酸氰根，0.1 ppm；铅、铁，0.25 ppm；硝酸根、亚硝酸根、碘铬和铝离子，1 ppm。少于55倍量的其它稀土元素不干扰。

6. 4, 4'-亚甲-双[3-甲基-1-(2-吡啶基)-吡唑基-5-醇法⁽⁶⁾。

试剂结构：



此法能检测在其它稀土氧化物中含量低于0.01%的铽或低于0.1%的镱。

操作方法：

将25毫克样品溶于盐酸中并蒸发至干，取出放入水中并稀至100毫升，将PH调至5。取1份溶液（内含约25微克上述稀土元素）与0.4毫升新配制的0.3%试剂溶液混合并稀释至2毫升，放置30分钟后稀释至10毫升，作荧光读数。对于铽，荧光峰549.5nm；对于镱，荧光峰574.8nm。

7. 3-甲基-1-苯基吡唑-5-酮法(7)。

将0.25毫升含有稀土氧化物250微克的样品溶液，与1毫升4%己胺溶液和0.2毫升2.5%试剂乙醇液混合。稀释至10毫升，放置40分钟后测量。 $\lambda_{ex}365nm$ ， $\lambda_{em}573nm$ 。

8. 桑色素法(8)。

在PH2.5时，稀土元素与桑色素络合并可在501nm处测荧光。

操作手续：

用过氯酸溶解25毫升三氧化镨样品（内可含钇、铽、铈或钕），蒸干。取出放入水中，稀至250毫升。取此液0.5毫升整，加入0.5毫升1mM过氯酸钠，0.5毫升1mM桑色素，1毫升乙醇，1毫升0.1M二安替比林甲烷和0.2毫升4%己胺溶液，稀释至5毫升并放置3分钟。络合物为1:1:2:1镨—桑色素—二安替比林甲烷—过氯酸盐离子和PH5.8—6.2。用5毫升氯仿萃取，用紫外线激发，在508nm处作荧光读数，超过0.25微克的亚铁，铁有严重的熄灭效应。20倍量的铈酰离子降低其荧光强度约20%。

9. 非那宗法(9)。

试剂又名安替比林，同2法。

操作手续：

对于铽和镝，用1：1苯—异丁基醇将磷酸三丁酯的样品萃取液稀释至每毫升约含500微克稀土。将这种稀释的萃取液装入五个试管中，每个试管1毫升。在两个试管中加入标准量的铽，作为铽与试剂及水杨酸钠的三元络合物的苯溶液。在另两个试剂中加入标准量的镝与同样的试剂的反应产物的苯溶液。每个试管用1：1苯—异丁醇稀释至9.4毫升。然后在第五个试管中加入0.5毫升2%试剂的苯溶液和0.1毫升水杨酸钠的乙醇溶液。在每个试管中都加入0.1毫升PH=9.2的氨化的甘氨酸缓冲溶液，再作荧光测量。铽、荧光峰543nm；镝，荧光峰575nm。

10. 槲皮素(10)法。

在50%1,4—二噁烷的弱酸性溶液中，镧系元素能与试剂络合。用醋酸异戊酯萃取镧、铈和钇的络合物，能熄灭试剂的强荧光。虽然比相应的桑色素络合物差，但也能实用。从PH5.5—7介质中如此萃取的铈可在493nm处测荧光强度，可检测至1.5—5微克/毫升。

11. 水杨酸(11)法。

在PH12—12.7时，铽、水杨酸和EDTA能形成1：1：1的络合物，可作荧光测定。 λ_{ex} 250—260nm， λ_{em} 546nm，可容许1.3倍铈，4倍铈或钆，5倍钇或铈和8倍的镧、铈、钇或钇存在。

12. 罗丹明B法(12)。

稀土元素能与试剂及水杨酸钠形成三元络合物而用以荧光测定。

操作步骤如下：

在含有3—30毫克钇的样品溶液中，加入10毫升0.5M水杨酸钠和5毫升0.01M罗丹明B，调节PH=6.2，用10毫升苯萃取。在546nm处测三元络合物的荧光。镧络合物在549nm读数；

钇络合物在551nm读数。

13. 磺化焦脞酚法⁽¹³⁾。

在稀土样品溶液中，加入1毫升1mM试剂和2毫升4%己胺溶液，调节PH至7，稀释至10毫升，在543nm或546nm处测荧光。

14. 磺基水杨酸法⁽¹⁴⁾。

缓冲溶液配制：在400毫升水中溶解70毫升二乙胺，并用盐酸调节PH至11.9。

在含有0.2—100微克铽的样品溶液中，加入1毫升0.1M EDTA，0.5毫升0.1M试剂和1毫升缓冲溶液，稀释至25毫升，放置10分钟后，在545nm处记录荧光。方法灵敏度为0.064—3.2微克/毫升。

15. 试钛灵 (Tiron) 法⁽¹⁵⁾。

样品溶液可含有20—30微克钇、镧、钕的混合氧化物以及镨和0.3—60ng的氧化铽，加入0.5毫升1mM试钛灵和0.5毫升PH = 9的氨类缓冲溶液，稀释至10毫升并放置10分钟。在302—312处激发，在546nm处读数。铽与试剂生成的络合物比为2 : 3。遵循比尔定律浓度范围为0.04—1000纳克/10毫升。

二、铈和钐的荧光分析

1. 1,1,1,5,5,5—六氟—2,4—戊二酮法⁽¹⁶⁾。

同稀土元素荧光检测法5。

2. 2—萘甲酰基三氟丙酮法⁽¹⁷⁾。

在含有0.001—50微克铈或1—50微克钐的稀盐酸溶液中，加入1毫升1M醋酸钠。调节PH = 5.5—6.5并稀释至10毫升。用10毫升含0.1mM试剂和0.01M三辛基磷氧化物的苯溶液萃取10分钟。如果铈的含量少于1微克，则将10毫升0.1mM试剂改为10毫升50微克分子，其它没有变化。将萃取剂作荧光读数。对于钐，

荧光峰565nm；对于铈，荧光峰615nm。用0.3或0.03微克罗丹明B作标准。

3. 2-噻吩甲酰三氟丙酮法⁽¹⁸⁾。

三价稀土中只有铈和钐与试剂生成络合物，在室温下用紫外光照射产生强荧光。钐与试剂形成1:3和1:4络合物。铈与钐都能与试剂、可力丁和二苯胍形成四元络合物。它们或在稀的乙醇中，或作为苯的萃取物在590—620nm测荧光。对于混合的稀土，用丁酸的氯仿萃取液萃取样品溶液进行分离。然后用试剂和1,10-菲绕啉测定铈和钐；用3-甲基-5-氧-2-吡啶啉-1-基苯磺酸测定铽和镱。

操作手续：

将铈的硝酸盐或氯化物的溶液蒸发至干，溶在二甲基甲酰胺中，并用二甲基甲酰胺稀释至25毫升，以得到最强的荧光。取一份溶液用氨水调节PH=7.5并加入过量的二甲基甲酰胺试剂，再用此试剂稀释至 10^{-7} — 10^{-8} M，再作荧光测量。 λ_{ex} 390nm， λ_{em} 615nm。对于铽，激发峰370nm，荧光峰545nm。

4. 砷偶氮Ⅲ、辛可芬的甲酯和1,10-菲绕啉法⁽¹⁹⁾。

首先，用磷酸二丁酯萃取以分离稀土，然后用0.25%钠汞齐从稀土的0.5M柠檬酸钠溶液中萃取铈。在2N盐酸中煮沸汞齐并与砷偶氮Ⅲ一起在652nm处读数。或用辛可芬的甲酯和1,10-菲绕啉显出荧光。

5. 苯甲酰三氟丙酮法⁽²⁰⁾。

在含有铈的样品溶液中，加入1毫升1M醋酸钠—醋酸缓冲溶液，用1N盐酸或氢氧化钠调节PH=4.5，稀释至10毫升，用10毫升0.5mM试剂和20mM三辛基磷氧化物己烷液萃取。用滤纸过滤萃取剂，然后测量。 λ_{ex} 365nm， λ_{em} 612nm。用每毫升0.3微克罗丹明B作标准。钐和铁有干扰。

6. 辛可芬法⁽²¹⁾。

试剂的配制：在22毫升热的0.1%氢氧化钾溶液中溶解0.5克辛可芬。稀释至100毫升，并核对PH约=8。

在盐酸中溶解样品，并用水稀释至每毫升约含稀土氧化物1毫克。在0.2毫升样品溶液及含有标准量铈的类似溶液中，加入0.5毫升40%己胺溶液，0.1毫升1%明胶溶液，0.5毫升试剂溶液和0.7毫升1%1,10-菲绕啉的0.02N盐酸溶液。稀释至5毫升，在612nm处测量铈的荧光。

7. 三水杨酸二菲绕啉法⁽²²⁾。

铈与铀都与试剂形成络合物，用苯萃取后作荧光测量。对于铈，荧光峰612nm；对于铀，荧光峰543nm。

三、镧的荧光分析

1. 4-[二(羧甲基)-氨基甲基]-3-羟基-2-萘甲酸法⁽²³⁾。

在PH=10时，镧或铈与试剂生或1:1络合物，能用于荧光检测。 λ_{ex} 370nm, λ_{em} 460nm。方法灵敏度为7—28微克/毫升。此试剂也与铝、铍、镓、铅、铟、镁、铊、钍、铀和锆离子形成络合物。

2. 桑色素和5,7-二氯-8-羧基喹啉法⁽²⁴⁾。

镧离子和桑色素在PH5.5的二氧杂环己烷-水溶液中所组成的络合物，在紫外光照射下会发生绿色荧光，荧光峰在505nm。方法测定范围为0.2—3.2微克镧/毫升。镧离子和5,7-二氯-8-羟基喹啉在PH9的二氧杂环己烷-水溶液中所组成的络合物，在紫外光照射下也会发生绿色荧光，荧光峰在526nm。测定范围为0.2—2.8微克镧/毫升。

四、铈的荧光分析

1. 磺基萘酚偶氮间苯二酚法⁽²⁵⁾。

试剂在PH 4—5时，与铈络合生成具有红色荧光的络合物，可检测50ppb的铈(Ⅲ)。λ_{ex}500nm, λ_{em}620nm。钼有干扰，必须分离。

试剂与亚铈离子生成1 : 1络合物。加入己胺或醋酸铵以及有机溶剂如丙酮，可增强荧光强度。

2. 亚铈离子的直接荧光法⁽²⁶⁾。

含有亚铈离子的稀硫酸或高氯酸溶液，在254nm射线激发下会发生紫外荧光。在硫酸中的测定范围为 1×10^{-6} — 1×10^{-4} 克离子亚铈/升，

3. 氟化钠熔珠法⁽²⁷⁾。

铈盐与氟化钠制成的熔珠，在紫外光照射下会发生红色荧光。熔珠中铈含量为1%时荧光呈亮红色，0.01%时呈橙棕色，.0005%时呈土红色。铈含量在0.001%以下不发生荧光。

参考文献：

1. Tomitsugu Taketatsu, M. A. Carey and C. V. Banks, *Talanta*, 13, 1081—1087; (1966) G. Alberti and M. A. Massucci *Anal. Chim. Acta* 35, 303—308 (1966)。
2. M. A. Tishchenko, L. A. Alakaeva, and N. S. Poluektov, *Ukr. khi. mZh.*, 37, 591—564(1971)。
3. Tomitsugu Taketatsu and Setsuko Yoshida, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 45, 2921—2923 (1972)。
4. R. P. Fisher and J. B. Winefordner, *Anal.*

- Chem., 43, 454—455 (1971).
5. Dora E. Williams and John C. Guyon, Mikrochim. Acta, 1972, 194—197; And. chem., 43, 139—140 (1971).
 6. E. Butter, I. Kolowas and H. Hozapfel, Talanta, 15, 901—911 (1968).
 7. M. A. Tishchenko, L. I. Kononenko, R. A. Vitkun and N. S. Poluektov, Ukr. Khim. Zh., 32, 508—513 (1966).
 8. Ch'ang Ti'He'u O. I. Volkova and T. O. Get'man, Visn. Kiiiv Univ., Ser. Fiz. Khim, 1971 (12), 43—46, 80.
 9. E. L. Melenteva, M. A. Tishchenko, R. A. Vitkun, L. I. Kononenko and N. S. Poluektov, Khim. prom. Inf. Nauk—Tekh. zb. 1965, [3(23)], 63—66.
 10. Akira Murata, Takushi Ito, Takaaki Sakamoto and Hirotsugu Kitamura, Asahi Garasu Kogyo Gijutsu Shoreikai Kenkyu Hokura, 26, 227—242 (1975).
 11. N. S. Poluektov, L. A. Alakaeva, and M. A. Tishchenko, Zh. Anal. Khim., 28, 1621—1623 (1973).
 12. A. T. Pilipenko, D. I. Bakardzhieva, A. I. Volkova, and T. E. Getinam, Ukr. Khim. Zh., 37, 689—694 (1971); N. S. Poluektov and M. A. San-du, Zh. Anal. Khim., 24, 1828—1832 (1969).
 13. N. S. Poluektov, L. A. Alakaeva and M. O.

- Tishchenko, *Ukr. Khim. Zh.*, 38, 172—176 (1972)
14. R. M. Dagnall, R. Smith and T. S. West, *Anal.YST*, 92, 358—363 (1967).
 15. Н. С. Полуэктов Л. А. Алакаева, М. А. Тищенко *Журнал хим.*, 1970, 25, 2351.
 16. Dora E. Williams and John C. Guyon, *Zavod. Lab.*, 38, 425—427 (1972).
 17. Tsunenobu Shigematsu, Masakazu Matsui and Ryousuke Wake, *Anal. Chim. Acta*, 46, 101—106 (1969).
 18. E. V. Melent'eva, N. S. Poluektov, and L. I. Kononenko, *Zh. Anal. Khim.*, 22, 187—192 (1967); R. Belcher, R. Rerry and W. I. Stephen, *Analyst*, 94, 26—31 (1969).
 19. M. Fabian, Eudre Upor and Gyule Nagy, *Acta. Chim. Hung*, 68, 1—9 (1971).
 20. Tsunenobu Shigematsu, Masakazu Matsui and Takayuki Sumida, *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ*, 46, 249—255 (1968).
 21. N. S. Poluektov, R. A. Vitkun and L. I. Kononenko, *Ukr. Khim. Zh.*, 30, 629 (1964).
 22. L. I. Kononenko, R. S. Lauer and N. S. Poluektov, *Zh. Anal. Khim.*, 18, 1468—1474 (1963).
 23. B. Bodesinsky and T. S. West *Anal. Chim. Acta*, 42, 455—465 (1968).
 24. L. L. Fleck, *Univ. Microfilms, Dissertation*

- Abstr., 22, 1810 (1961).
25. C. Ti Huu, A. I. Volkova and T. Getwan, Zh. Anal. Khim, 24, 688 (1969)
26. W. A. Armstrong, D. W. Grant and W. G. Humphreys, Anal. Chem., 35, 1300-1301 (1963).
27. A. M. Ущакова, Журнал хим, Хиу, 18, 79, 1963.

第三节 铀的荧光分析

1. 桑色素法 (1)。

含有桑色素和丙酮的中性溶液会发生荧光, 溶液中如有 UO_2^{+2} 离子存在将引起荧光强度降低, 降低的程度和 UO_2^{+2} 离子的浓度成正比例, 因而可用以测定试样中铀含量。

此法灵敏度为 0.05 ppm。此法选择性不好, 测定之前须先用乙醚萃取法使 UO_2^{+2} 离子和其它离子分离。

2. 罗丹明B和苯甲酸法 (2)。

UO_2^{+2} 与罗丹明B和苯甲酸形成三元络合物, 这种络合物在紫外光照射下会发生橙色荧光。激发峰 366 nm, 荧光峰 590 nm。

亚铁、铁、钍、硅酸根、磷酸根, 钨酸根及钼酸根等离子对此法有干扰。

操作手续:

缓冲溶液的配制: 在 100 毫升 2% 氢氧化钠溶液中, 溶解 12 克苯甲酸和 1 mM EDTA 钠盐, 稀释至 900 毫升, 用 1:2 硝酸调节 PH 至 4.5 并稀释至 1 升。过滤以除去过量的苯甲酸。

溶液 I 的配制: 在 200 毫升甲基异丁基酮中溶解 4.5 克苯甲酸。

溶液 II 的配制: 在 1 升苯和 1 升水中溶入 1 克罗丹明B, 摇

荡5分钟。通过滤纸过滤苯层。

有色试剂的配制：在200毫升乙醚中加入160毫升溶液I，然后用溶液II稀释至1升。

样品溶液中加入一滴溴酚蓝，用8%氢氧化钠溶液调节至溶液刚好成蓝色，使其 $\text{PH}=4.5$ 。在3毫升接近中性的样品溶液中（约含0.02—3微克铀/毫升），加入2毫升苯甲酸缓冲溶液和5毫升有色试剂，摇荡2分钟后离心1分钟，然后将有机层在555nm处作荧光读数。同时用试剂本底作对照。

海水中铀含量的测定⁽³⁾：

取50毫升干净的样品（内含约6微克铀），加入2毫升0.1M硝酸钍。用1N盐酸调节 PH 至 5.7 ± 0.1 ，转移至浮选池中，并加入0.05%十二烷基磺酸钠乙醇溶液2毫升。将空气以每分钟 10 ± 2 毫升的速度通入溶液3分钟，除去泡沫，并将其溶解在4毫升4:1盐酸—硝酸中，蒸发至近干，取出放至5毫升1:50硝酸中，并转移至40毫升派热克司玻璃容器中，蒸发至干，但避免结块。加入15毫升溶液（此液配制：在125毫升水中溶入550克硝酸钙($\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)和7.5克EDTA二钠盐），温热以溶解残渣，冷却并用6毫升乙酸乙酯萃取。离心并取有机层5毫升整，在 90°C 蒸发至干。加入0.1毫升硝酸，再次蒸干。在1毫升 $\text{PH}7.5$ 的0.05N氨水—0.9N硝酸铵缓冲液中溶解残渣。加入2毫升罗丹明B的饱和溶液（溶在1%苯甲酸的苯溶液中），在575nm处作荧光读数。

3. 乙酸锌法⁽⁴⁾。

将含有微量铀的乙酸锌溶液加于含有明胶的磷酸氢二钠——磷酸二氢钠缓冲溶液($\text{PH}=5$)时，所得悬浊液在紫外光照射下会发生明亮的荧光。在含铀量为0.08—2微克铀/毫升的范围内，荧光强度和含铀量呈线性关系。此法可测定天然水中和低含量铀矿中的含铀量。银、钛、钴、镍、铜、汞、铅、亚铁、铋、铈、锰、铁、铬等

离子引起荧光熄灭，须加以掩蔽或分离。

4. 熔珠法⁽⁵⁾。

微量铀和氟化钠一起熔融所生成的熔珠，在紫外光照射下会发生明亮的黄绿色荧光，它比 UO_2^{+2} 盐单独存在时的荧光强度大得多，可用来检定铀和测定试样中的铀含量。

操作手续：

在用过滤空气集尘法收集空气中含有微量铀的粉尘之后，将抽气机上采样滤布取下，撕去硬纸环及纱布层，置滤布于20毫升瓷坩埚中。坩埚移置在冷却的马弗炉内，逐渐升高温度至 $650^{\circ}C$ 左右，灼烧30分钟。冷却至室温，加入浓盐酸及浓硝酸各1毫升，置于平板电炉上加热至近沸，并蒸发至干。再加入1N硝酸1毫升及蒸馏水1.5—2.0毫升，加热至近沸约1分钟。取下冷却，倒入10毫升容量瓶中。用蒸馏水洗坩埚几次，并入容量瓶，稀释至刻度。

混合等重量的碳酸钠及氟化钠，仔细研磨，用打片模打成重量约100毫克的珠球。用直径为4.2毫米的铂丝环套取一球珠。用滴管滴下一滴上述试样溶液，于酒精灯火焰上方慢慢烘干后，置于喷灯氧化焰中（约 $900^{\circ}C$ ）灼烧至完全透明，继续灼烧2—3秒。取出，待熔珠冷却后，置于荧光计上，在紫外光照射下，与标准系列进行比较；或置于固体试样用的光电荧光计上进行测定，以求出铀含量。

5. 噻吩甲酰三氟丙酮法⁽⁶⁾。

试剂与铀所形成的络合物，在液氮冷冻下用紫外光照射时亦会发生荧光，其荧光峰在522nm。络合物的荧光强度与试剂的浓度有关，试剂的浓度为0.0003M时，测定范围为0.01—1微克铀/毫升。

参考文献:

1. E. Tomic, and F. Hecht, *Mikrochim. Acta*, 896 (1955).
2. H. H. P. Noeken and W. A. H. Van Neste, *Anal. Chim. Acta*, 37, 480—483 (1967).
3. Young S. Kim and Harry Zeitlin, *Anal. Chem.*, 43, 1390 (1971).
4. G. Alberti, A. Saini, *Anal. Chim. Acta*, 28, 536 (1963).
5. Chief Chemist, Laboratories Division, Technical Dept, U. K. A. E. A. Production Group Rept, 224 (1961).
6. Т. С. Добролюбская, *Журнал хим*, 26, 926, (1971).

第四节 钽的荧光分析

1. 3-羟基黄酮法⁽¹⁾。

四价钽与试剂在稀盐酸介质中生成荧光络合物，在紫外光照射下会发生蓝色荧光。荧光峰460nm。此法灵敏度为0.01ppm。铬、钨、铁、铈、铂和氟等元素有干扰。

独居石中钽的测定方法：

称取独居石试样100—300毫克于铂坩埚中，用少量水润湿试样，加数毫升氢氟酸，在电热板上加热，蒸发至刚干。加入2毫升浓硫酸，慢慢加热，加盖以防止喷溅，慢慢升温至350℃，继续加热3小时（必要时可加入少许硫酸，但其量不要超过2毫升），冷却，用50毫升水冲洗铂坩埚内熔物至100毫升烧杯中。加热至所有盐类溶解，转移到100毫升容量瓶中，用水稀至刻度。移取上述溶液10毫升，加入20毫升6N硝酸，然后让它通过阴离子交换树脂柱，用100毫升6N硝酸洗柱子，然后用2.5N盐酸将钽解吸于100毫升容量瓶中，收集至100毫升。移取10毫升于50毫升烧杯中，加入5毫升硝酸和1.5毫升高氯酸，蒸干，冷却至室温，加5毫升0.1N盐酸，煮沸，冷却，转移到100毫升容量瓶中，用45毫升0.1N氯化钠溶液洗涤烧杯，并入容量瓶中，加入25毫升乙醇和2毫升0.05%试剂，用水稀释至刻度，然后测荧光强度，再由工作曲线求出钽的含量。

2. 桑色素法⁽²⁾。

在0.01M盐酸的50%乙醇溶液中，试剂能与钽络合，在紫外光照射下会发生绿黄色荧光。 $\lambda_{ex}420nm$ 、 $\lambda_{em}520nm$ 。可检测至0.02ppm。铝、钙、铁、镧和锆有干扰。

测定时，加入二乙三胺五乙酸（DTPA），以消除铈、钇、镧、铷等离子的干扰。加入三羟基胺以防止在加入氢氧化钠时氢氧化钽局部沉淀，然后加入氢氧化钠，氮己环缓冲液及桑色素试

剂溶液，进行荧光强度测定。加入乙酰丙酮可消除铍的干扰，加入柠檬酸盐可以消除锆的干扰。此法曾用于空气灰尘，水，独居石及其它钍矿中钍的测定。

操作手续：

称取矿石试样50毫克，放置于一个50毫升铂皿中与2克无水氟化钾在950℃熔融，加入30毫升浓硫酸和1克无水硫酸钠，再熔融，将铂皿置于一个400毫升烧杯中，加入10毫升0.025 MDTPA的二钠盐溶液，1毫升50%三羟乙基胺溶液，20毫升水，徐徐加热及打漩使熔融物脱离铂皿，将铂皿移出，用30毫升水漂洗。往溶液中加入10滴0.01硫酸奎宁溶液，在紫外光照射下，边打漩边滴加8 M氢氧化钠溶液直至荧光消失。将溶液煮沸使熔融物完全溶解，再滴加氢氧化钠溶液至荧光消失，并多加2滴，将溶液煮沸2分钟使稀土元素硫酸盐溶解。滴加10N硫酸至荧光出现，并多加2滴。加入5滴25%偏亚硫酸氢钠溶液，静置5分钟使铈(IV)离子还原，以避免桑色素试剂被铈离子氧化。冷却后，转移至一个100毫升容量瓶中，稀释至刻度。

移取一部分上述溶液于一个25毫升容量瓶中，加入1滴25%偏亚硫酸氢钠溶液，5毫升硫酸钠溶液(28克/100毫升)及5毫升 NaClO_4 -DTPA-TEA溶液(500毫升内含有重蒸馏过的氮己环100毫升，DTPA44克，柠檬酸钠结晶50克，无水亚硫酸钠20克)，打漩。加入0.0075%桑色素溶液1.00毫升，小心稀释至刻度，混匀，置恒温槽中。在加入桑色素试剂后 20 ± 1 分钟测量这一溶液的荧光强度，由工作曲线求出钍含量。

3. 3,4',7-三羟基黄酮法⁽³⁾。

试剂能用于荧光检测钍(IV)，灵敏度可达0.0012—0.4微克/毫升。铍离子也与此试剂组成络合物，但荧光很弱。其它元素的干扰情况与桑色素法大致相同。铁和钴可用含盐酸羟胺的氰化物溶液掩蔽。

空气尘埃中钍的分析：

络合试剂的配制：在375毫升水中，溶入100克无水硫酸钠。在50毫升水中溶解6克二乙三胺五乙酸。将它们与25毫升50%三乙醇胺合并稀释至500毫升。

缓冲溶液的配制：在300毫升水中溶解44克二乙三胺五乙酸，50克柠檬酸钠和20克无水硫酸钠，加入20克乙醇胺和65克哌啶，冷却并稀释至500毫升。

湿灰样品溶在水中，取一份相当于2升空气的样品（即从2升空气中收集的尘埃样品），加入1毫升10%硫酸钠的硫酸溶液并蒸发至干。加入2毫升水和1滴25%偏硫酸氢钠溶液，蒸发至0.5毫升。加入5毫升络合试剂，几滴25%偏硫酸氢钠溶液和1毫升1%氰化钾溶液。加入2滴0.01%硫酸奎宁溶液并在紫外线灯附近逐滴加入1N氢氧化钠，直至亮蓝色荧光消失。加入5毫升乙醇胺—哌啶缓冲溶液，1滴25%盐酸羟胺溶液和1毫升0.007%试剂乙醇溶液。稀释至25毫升，在25℃维持20分钟后，在520nm处作荧光读数。

水中钍的测定：

将50毫升样品与3毫升硫酸一起蒸干，加入2克硫酸钠并加热至焦硫酸盐熔融。溶解在水中，取含10微克钍的一份试样，然后按上法“加入1毫升10%硫酸钠的硫酸溶液……”操作。

4. 1-氨基-4-羟基蒽醌法⁽⁴⁾。

试剂与钍(IV)在PH2.3时反应能形成荧光络合物，发红色荧光。 $\lambda_{ex}550-580nm$, $\lambda_{em}660nm$ 。此法检测限度为8ppm铁、镓、镓和锆有干扰。

5. 槲皮素法⁽⁵⁾。

在PH4—7的醋酸盐缓冲溶液或在PH=4的己胺缓冲溶液中，钍与试剂形成1:1络合物。在PH=3时可用于荧光读数。 $\lambda_{ex}425nm$, $\lambda_{em}541nm$ 。

6. 8-羟基-5, 7-二硝基喹啉和罗丹明B法⁽⁶⁾。
在PH1.8时, 试剂与钍(IV)形成三元络合物, 可用苯萃取。在最佳条件下, 荧光测定灵敏度可达7 ng—1.5 μ g/ml。能容许10倍量的铀和20倍量锆存在。 λ_{ex} , 560nm, λ_{em} 580nm。

7. 5, 7-二溴-8羟基喹啉和罗丹明B法⁽⁷⁾。

试剂与钍(IV)形成三元络合物, 在PH4.7—7.0中用苯萃取。用有机相荧光消失法测量。 λ_{ex} 144nm, λ_{ex} 570nm。检测限度为0.2—6 微克/5 毫升。

参考文献:

1. R. S. Bottei and A. D' Alessio, *Anal. Chim. Acta*, 37, 405 (1967).
2. R. G. Milkey, M. H. Fletcher, *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 5425 (1957).
C. W. Sill, C. P. Willis, J. K. J. Flygare, *Anal. Chem.*, 33, 1671 (1961).
C. W. Sill, *Anal. Chem.*, 33, 1579 (1961);
C. W. Sill, C. P. Willis, *Anal. Chem.*, 34, 954 (1962).
3. T. D. Filer, *Anal. Chem.*, 43, 1265—1267 (1970).
4. C. E. White and D. E. Hoffman, *Anal. Chem.*, 29, 1105 (1957).
5. A. Babko, C. Hzeu, A. Volkova and T. Getman, *Ukr. Khim. Zh.*, 35, 292 (1969).
6. Yu. V. Granovshii, V. K. Runov, I. S. Tishchenko and A. P. Golovina, *Zh. Anal. Khim.*, 29, 1959—1963 (1974).
7. *CA*, 1975, 82, 164398.

第五章 常见非金属离子的荧光分析法

非金属元素虽然占地壳总重量的77%，但在元素种类上却比金属少得多。而非金属离子的荧光分析方法更少。

在通常情况下，非金属中有些是气体，有些是固体，有一种是液体。对于气体（惰性气体除外），在研究它们的荧光分析时，象氧那样直接以气态的方式进行分析的例子很少。经常是根据检测它们的化合物或离子，然后通过换算计算出元素的含量。在研究有的非金属时，如含氮化合物的荧光分析，则是直接检测化合物或酸根的含量，如硝酸盐和亚硝酸盐、氰化物、氨和胍等。

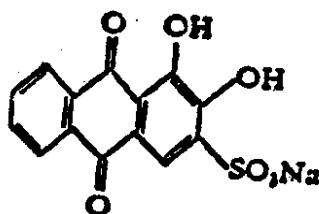
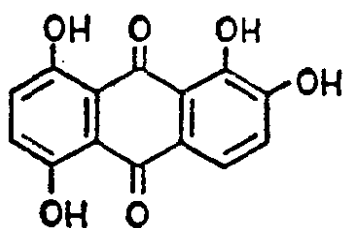
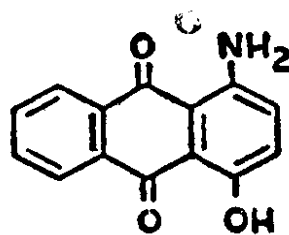
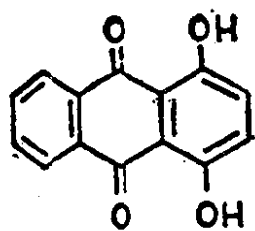
有的元素，如硼、硅、砷、磷和硒，性质不象卤素那样具有典型的非金属性。所以，没把它们按族排列，而是单独成节介绍。

另外，本章检测方法中灵敏度的表达，有的是象金属离子分析一样以每毫升所能检测的离子含量表示；有的只是以有效成分的含量表示，如过氧化氢的检测等，这是需要说明的。

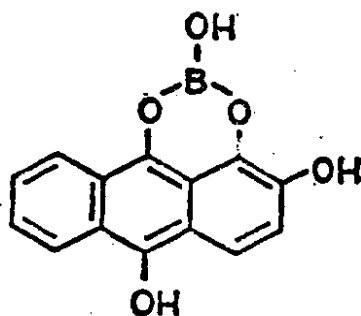
第一节 硼的荧光分析

一、概述

硼的荧光分析法较多。其中，较重要的试剂是羟基蒽醌类，例如：

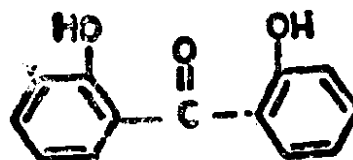
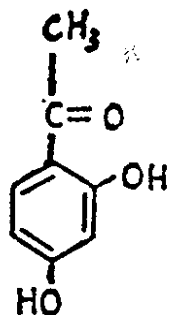
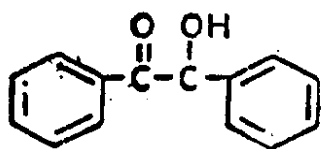


它们与硼反应生成的化合物类似下列结构:



在紫外线照射下会发生荧光, 从而建立硼的荧光分析法。

硼的另一类荧光试剂是安息香及类似安息香结构的苯乙酮、苯甲酮。它们的结构为:



(安息香) (2,4-二羟基苯乙酮)

(二羟基二苯甲酮)

与硼生成的络合物都有荧光，其检测灵敏度较高。

硼的检测，经常以硼酸盐的形式进行，这是必须加以注意的。

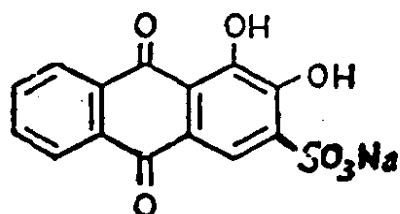
硼的各种荧光分析法的比较列于下表：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppm)
乙酰水杨酸	荧光络合物	0.01
茜素红S	荧光络合物	1.0
1-氨基-4-羟基蒽醌	荧光络合物	1.0
安息香	荧光络合物	0.04
胭脂虫红	荧光络合物	1.0
二苯酰甲烷	荧光络合物	0.0005
黄酮	荧光络合物	1.0
桑色素	荧光络合物	1.0
苯基荧光酮	荧光络合物	1.0
栝 精	荧光络合物	1.0
醌茜素	荧光络合物	0.01
2, 4-二羟基苯乙酮	荧光络合物	1.0
罗丹明 6 G + 水杨酸	荧光络合物	0.001
钽试剂I	荧光络合物	0.005
1-(邻偶砷苯基偶氮)-2-羟基-8, 6-萘二磺酸	荧光络合物	0.01
二羟基-2, 4-二苯甲酮	荧光络合物	0.004
4-氯-2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮	荧光络合物	0.1
丁基罗丹明B + F ⁻	三元络合物	0.01

二、分析方法

1. 茜素红S⁽¹⁾。

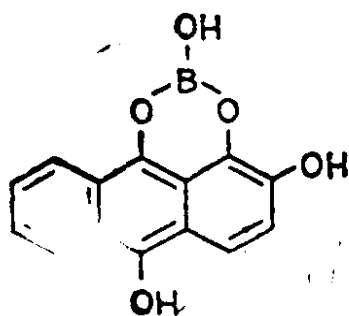
试剂结构：



它在浓硫酸介质中在紫外光照射下会发生黄色荧光。当硼存在时，其荧光颜色由黄色转变为玫瑰红色。方法的灵敏度为1微克硼/毫升。碘、氯、铈和铁等元素有干扰。

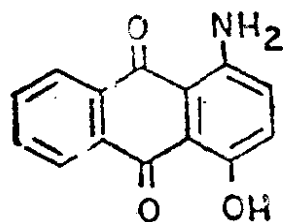
试剂使用0.002%的浓硫酸溶液。将等体积的样品溶液与等体积的试剂溶液混合。

碘化物的干扰可加入硫酸银粉末加以消除，氯酸根用30%甲醛溶液消除；铈用氯水消除；铁用氯化亚锡粉末还原。其反应生成物为：

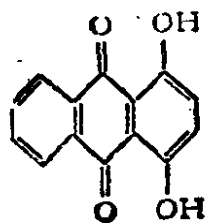


2. 1-氨基-4-羟基萘醌法⁽²⁾。

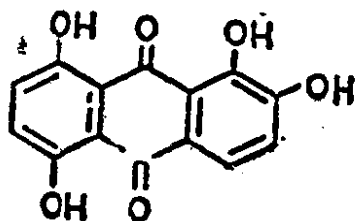
试剂结构：



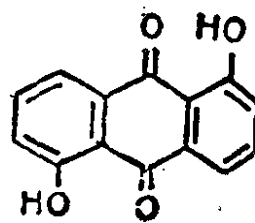
试剂能与硼在浓硫酸介质中生成螯合物，会发生荧光。其它类似结构的羟基蒽醌化合物也能用于硼的荧光检测。如1, 4一二羟基蒽醌, 结构为(1)。以及1, 2, 5, 8—四羟基蒽醌, 结构为(2), 及1, 8一二羟基蒽醌, 结构为(3)：



(1)



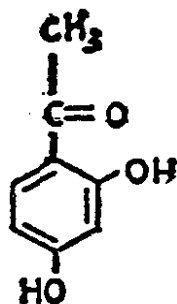
(2)



(3)

3. 2, 4一二羟基苯乙酮(3).

试剂结构：



它在浓硫酸或浓磷酸介质中与硼酸盐生成会发生蓝色荧光的化合物。基于这一反应所建立的硼的荧光分析法，其测定范围为40—280微克硼/毫升。此法荧光强度较为稳定，但灵敏度较低。锆、

$B_2O_3^-$ 、 ClO_3^- 、 CrO_4^{2-} 、氟等离子有干扰。

操作方法(4)：

把含硼量为0.01—0.5微克的样品溶解在2毫升90%的硫酸溶液中，向其中加入0.5毫升硫酸和0.5毫升0.006425%的2,4-二羟基二苯酮硫酸溶液。然后将此溶液在70℃加热40分钟后冷却，作荧光读数。 $\lambda_{ex}364nm$ ， $\lambda_{em}503nm$ 。

4. 桑色素法(5)。

硼酸盐和桑色素在稀盐酸溶液中所形成的络合物，在紫外光照射下会发生绿蓝色荧光。荧光峰470nm，测定范围为0.02—0.5微克硼/毫升。

桑色素与草酸和含硼酸的乙醚溶液经真空蒸发，残渣在110℃加热30分钟，将所生成的桑色素—硼—草酸缔合物溶于丙酮和乙醚，此溶液在紫外光照射下会发生荧光。 $\lambda_{ex}430nm$ ， $\lambda_{em}518nm$ 。在0.0004—0.020微克硼/毫升范围内，荧光强度与硼浓度呈线性关系。

操作方法(6)：

约含0.5—12微克硼的硼酸溶液中，加入过量碳酸钠，蒸干。用1N盐酸中和残余物，再过量1.5毫升，它们应生成5—30微克氯化钠。加入1.5毫升0.1N草酸溶液和1.5毫升0.02%桑色素乙醇液，在100℃蒸干，再在110℃加热30分钟后作荧光读数。 $\lambda_{em}505nm$ ，产物为黄绿色荧光，注意避免荧光素钠的荧光干扰。

无机样品中硼的检测(7)：将样品溶于5毫升40%硫酸中并加入10毫升甲醇。在甲醇蒸气的气流下蒸馏直至收集到含硼酸甲酯的蒸馏液15毫升。加入2.5毫升0.1N碳酸钠并蒸干。残渣冷却后加入1毫升1N盐酸，1毫升0.3%草酸溶液和1毫升0.1%桑色素溶液，再蒸干，加入10微克草酸并在100℃加热5分钟，冷却后用10毫升乙醚萃取15分钟，用1毫升丙酮，然后用10毫升

乙醚清洗残留物，用乙醚将萃取液及清洗液稀释至25毫升。放置30分钟后读数。与 $1\mu\text{M}$ -3-氨基酞亚胺的 0.1N 硫酸溶液的荧光相比较。

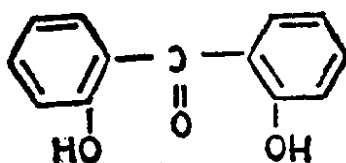
•用甲酸可取代盐酸，然后用Dowex50w-x8交换柱除去钠离子，用此技术可允许测定4—500纳克的硼。

5. 1-(邻偶砷苯基偶氮)-2-羟基-3,6-萘二磺酸法⁽⁸⁾。

试剂与硼酸盐在浓硫酸介质中所生成的络合物，在紫外光照射下会发生荧光，可用于荧光测定。 $\lambda_{\text{ex}}390\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}587\text{nm}$ 。此法的测定范围为 0.01 — 0.7 微克硼/毫升，此法曾用于四氯化硅中微量硼的测定。

6. 二羟基-2,4-二苯甲酮法⁽⁹⁾。

试剂结构：

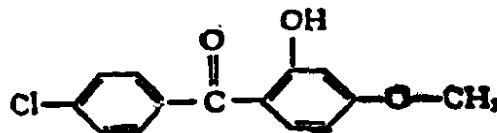


它曾用来测定硼，其络合物的激发峰在 370nm ，荧光峰在 503nm 。此法测定范围为 0.0036 — 0.18 微克硼/毫升。

在二羟基二苯甲酮的取代化

合物中，以2-羟基-4-甲氧基-4'-氯二苯甲酮(HMCB)

为最灵敏，其结构为：



它的测定范围达 0.00012 — 0.012 微克硼/毫升。此法曾用于氢氧化钠和钢中微量硼的测定。

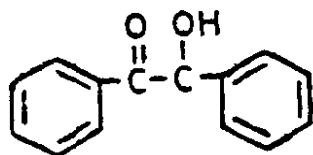
操作手续：

将45毫升浓硫酸和5克氢氧化钠试样慢慢地加入到在冰浴上冷却的250毫升长颈烧瓶中，小心又迅速地搅拌溶液。为使氢氧化

钠全部溶解，置水浴中，逐渐提高温度到80℃，待全部溶解后，冷却，转移至100毫升容量瓶中，加浓硫酸至刻度，摇匀。移取此溶液2.8毫升于石英试管中，加0.20毫升0.00105% HMCB试剂的浓硫酸溶液，塞上聚乙烯塞，摇匀，在70℃烘箱加热35分钟，冷却，转移至液槽中，用365nm射线激发，在490nm处测量荧光强度，由工作曲线求出硼含量。

7. 安息香法¹⁰⁾

试剂结构：



它是硼荧光分析中常用的试剂，它和硼酸盐在碱性介质中所形成的络合物，在紫外光照射下呈现绿蓝色荧光。 λ_{ex} 370nm, λ_{em} 480nm.

改用甲酰胺作溶剂，用异丙胺或异丁胺调节溶液碱度，因硼—安息香络合物在甲酰胺介质中的荧光强度比在乙醇中的荧光强度约大5倍，而且在甲酰胺中氧所引起的熄灭作用不显著。此法测定范围为0.05—0.5微克硼/毫升。

操作手续：

取试样的水溶液1毫升，加入水1毫升，重蒸馏过的异丁胺2毫升及甲酰胺18毫升。通入氮气10分钟，加入已除过氧的0.5%安息香的甲醇溶液3毫升，并用已除过氧的甲酰胺稀释至25毫升，作荧光测量。 λ_{ex} 365nm, λ_{em} 480nm。

高纯锡中硼的检测⁽¹¹⁾：将0.5克样品溶于1:1盐酸中，逐滴加入30%过氧化氢。加入30毫升水后，向此溶液中通入硫化氢气体30分钟以沉淀锡和重金属的硫化物，放置15分钟后过滤至

铂坩埚中，调节PH=5.6—6，在90℃蒸发至干，将残渣溶于8毫升水中，用乙醇稀释至25毫升，过滤。取此滤液5毫升整与1毫升含0.36%氢氧化钠，0.06%氯化钠和0.075%甘氨酸的溶液和3毫升0.5%安息香乙醇溶液混合。用乙醇稀释至25毫升，放置20分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}365nm$ ， $\lambda_{em}420nm$ 。

钢中硼的检测：

①酸可溶样品中硼的检测：将0.1克样品溶于5毫升1：4硫酸中，加入40毫升甲醇后蒸馏硼酸甲脂，直至体积减少至几毫升，用含0.5毫升0.6N氢氧化钠的铂金盘作接受器。冷却蒸馏瓶，再加入30毫升甲醇，还象上述操作那样蒸馏至同样的接受器中。将蒸出液蒸干，然后将残渣溶于5.5毫升水中。加入20毫升乙醇，用乙醇稀释至45毫升，加入安息香试剂，2分钟后读数。 $\lambda_{ex}365nm$ ， $\lambda_{em}420nm$ 。用No.5800Corning紫外滤光片作一级滤光片，Wratan 2 A胶片作二级滤光片。

②酸不溶样品中硼的检测⁽¹²⁾：在二次蒸馏后，将蒸馏瓶中的残渣用15毫升热水溶解，然后过滤。弃去滤液，清洗残渣。然后转移滤纸上的残渣至铂金坩埚中，在滤纸上滴加0.1克硼酸钠后，灼烧。熔块用5毫升1：4硫酸溶解，然后按酸可溶硼的检测中的步骤操作。

矿物质中硼的检测⁽¹³⁾：将含量约为1—30微克的硼样品0.5克与2克碳酸钠一起熔融，用水萃取并稀释至100毫升。取此溶液1毫升整，与0.5毫升PH=12.8的甘氨酸缓冲液和4毫升乙醇混合，加入0.5毫升0.5%的安息香溶液，放置15分钟后读数， $\lambda_{ex}365nm$ ， $\lambda_{em}420nm$ 。

土壤中硼的测定⁽¹⁴⁾：将10克样品，加10毫升水和0.05毫升3%硫酸铜溶液，煮沸5分钟，过滤并稀释至50毫升。取此溶液5毫升整，与0.5毫升0.1N氢氧化钾混合，然后蒸干。用5毫升乙醇从残渣中萃取硼。对于含量大于1微克的硼，萃取效率约为

78—95%。取此萃取液1毫升整，与1.5毫升水，0.5毫升PH=1.28的甘氨酸—氟化物离子缓冲液，1.5毫升乙醇和0.5毫升0.5%安息香溶液混合，放置10分钟后读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$ ， $\lambda_{em}420\text{nm}$ 。

8. 苯基荧光酮法⁽¹⁵⁾。

试剂在碱性介质中，与硼络合生成会发生强的绿色荧光的化合物。

反应最佳PH为9.5。此法能检测1微克硼/毫升。荧光能稳定2—3天。许多阳离子能熄灭荧光，从而产生干扰；阳离子中，只有磷酸根产生微弱的荧光，而醋酸根、硝酸根、硫酸根、氯化物及碘化物不反应。

9. 二苯酰甲烷法⁽¹⁶⁾。

在浓硫酸介质中，试剂与硼酸形成高灵敏的化学荧光络合物。检测限度为0.5ppb的硼。

操作方法：

把样品和二苯酰甲烷加在硫酸中，在70℃加热30分钟，冷却后用乙醚稀释，在液氮下作荧光读数。 $\lambda_{ex}385\text{nm}$ ， $\lambda_{em}410\text{nm}$ 。

10. 罗丹明6G和水杨酸法⁽¹⁷⁾。

三价硼与试剂形成三元络合物，可用苯从0.001N盐酸中萃取。再测萃取剂的荧光。 $\lambda_{ex}366\text{nm}$ ， $\lambda_{em}440\text{nm}$ ，此法灵敏度为1ng硼。铂、铈、钼、钒、钨有干扰。

11. 钽试剂I法。

此法可用于高纯四氯化硅中硼的测定。在586nm处测量荧光强度。可检测0.005—5微克硼。

操作方法⁽¹⁸⁾：

先准备好84—90%的硫酸水溶液。取0.8毫升含硼量为0.03—2.1纳克的硫酸溶液，与0.2毫升含0.13%钽试剂的硫酸溶液相

混，然后加上准备好的硫酸溶液至2毫升整。放置90分钟后，作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}587\text{nm}$ 。

四氯化硅中硼的测定⁽¹⁹⁾：

取20毫升样品溶液，用干冰冷却，然后加入2毫升饱和的邻氯三苯甲烷的二乙胺溶液，放置1小时。用红外线灯蒸发四氯化硅和二乙胺，在100℃下干燥。加入5滴发烟硫酸—硝酸混合液，温热直至除尽氮的氧化物。再加入2毫升0.05%钽试剂的硫酸溶液，在50℃温热30分钟，冷却后作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}586\text{nm}$ 。

12. 乙酰水杨酸法⁽²⁰⁾。

试剂与硼形成络合物，在浓硫酸—醋酸(2:3)介质中，荧光络合物的荧光强度达到最大值，能检测10ppb的硼。

13. 4-氯-2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮法⁽²¹⁾。

试剂与硼生成络合物而用以荧光检测， $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}490\text{nm}$ 。此法可以用以钢中硼的测定。

操作方法⁽²²⁾：

将含量为 10^{-9} 至 2.2×10^{-5} 克硼的样品，在2.6毫升硫酸中与0.3毫升0.00525%的4'-氯-2-羟基-4-甲氧基苯酮硫酸溶液一起于70℃加热5分钟，冷却后作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}490\text{nm}$ 。

钢中硼的检测⁽²³⁾：将20毫克样品与5毫升1:1硫酸一起在55℃回流。为避免硼的损失，在冷凝器顶端滴入一滴0.3M碳酸钠。冷却后离心。将不溶的残渣与5毫升硫酸在300℃加热，冷却后离心。再重复此操作步骤。合并萃取液，并用硫酸稀释至19毫升，加入1毫升0.0105%试剂硫酸溶液，在70℃加热35分钟后冷却，作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}490\text{nm}$ 。

氢氧化钠中硼的检测⁽²⁴⁾：在硅容器中加入45毫升硫酸，用水冷却，逐滴加入5.5克氢氧化钠，然后将此溶液温热至80℃。

冷却并用硫酸稀释至100毫升。取此溶液2.7毫升整，加入0.2毫升0.0105% 4'-氯-2-羟基-4-甲氧基苯酮的硫酸溶液，将混合物在70℃加热35分钟，冷却后作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}490\text{nm}$ 。水的存在可容许至8%而不影响读数。

水中硼的检测⁽²⁵⁾：用硫酸将0.3毫升样品稀释至3.8毫升。将1.05克试剂溶在10毫升硫酸中，取此试剂液0.2毫升，加入样品溶液中。在70℃加热40分钟，然后冷却30分钟，作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}490\text{nm}$ 。

对于含量约为1—80ppm硼的样品，则每毫升样品溶液中加入0.3毫升2%氢氧化钙悬浮液并蒸干。然后溶于硫酸中，按上述操作过程显色。

血中硼的检测⁽²⁶⁾：将0.1毫升约含0.6—0.8ppm硼的血液样品在硅管中与柠檬酸钠、氢氧化钠和水一起在550℃加热100分钟，用硫酸溶解残渣并用30%过氧化氢在200℃加热30分钟，冷却，然后用0.01%试剂硫酸溶液处理。然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$, $\lambda_{em}490\text{nm}$ 。

14. 其它方法。

胭脂虫红法⁽²⁷⁾。此法可检测1.0ppm硼。

丁基罗丹明B法⁽²⁸⁾。试剂与三价硼及氟离子形成三元络合物，用苯从0.1N硫酸加0.05N F⁻中萃取。 $\lambda_{ex}536\text{nm}$, $\lambda_{em}590\text{nm}$ 。此法灵敏度为0.01—0.5微克/毫升。许多阳离子有干扰。如在萃取前加入30—35%的丙酮于显色剂样品液中，可使萃取物的荧光增强10—14倍。

参考文献:

1. L. Szebellady and S. Tamay, *Z. Anal. Chem.*, 107, 26 (1936).
2. J. A. Radley, *Analyst*, 69, 47 (1944); L. Rosenthaler, *Mikrochemie*, 23, 194 (1937); R. Ruggieri, *Anal. Chim. Acta*, 25, 145 (1961).
3. G. G. Rao, N. Appalaraju, *Z. Anal. Chem.*, 167, 325 (1959).
4. D. Monnier, A. Marcantonatos, *Helv. Chim. Acta*, 47, 1980—1986 (1964).
5. L. Pszonicka, W. Tkacz, *Chem. Anal. (Warsaw)*, 15(4), 809 (1970); *ibid.*, 15(6), 1097 (1970).
6. Akira Murata and Fumio Yamauchi, *J. Chem. Soc. Jap.*, 79, 231-236, 1454-1458 (1958).
7. Jerzy Dabrowski and Leon Pszonicki, *Chemia. Analit.*, 16, 51-57 (1971). • Włodzimierz Tkacz and Leon Pszonicki, *Chem. Anal. (Warsaw)*, 22, 801-804 (1977).
8. M. Marcantonatos, D. Monnier, A. Marcantonatos, *Helv. Chim. Acta*, 47, 705 (1964).
9. M. Marcantonatos, D. Monnier, J. Daniel, *Anal. chim. Acta*, 35, 309 (1966).
10. G. Elliott, J. A. Radley, *Analyst*, 86, 62

(1961) .

11. Yu. L. Lel'chuk and V. A. Ivashina. *Izv. Tomsk, Polikh, Inst.* 148, 152-156 (1967) .
12. Charles E. White, Alfred weissler, and David Busker, *Anal. Chem.*, 19, 802-805 (1947) .
13. D. P. Shcherbov, R. N. Korzheva and A. I. Ponomarenko, *Metody Lyumin, Anal. (Minsk, Akad, Nauk, SSR) sb;* 1960, 37-42.
14. V. N. Podchaimova and L. V. Skornyakora, *Tr. Ural. Politekh. Inst.* 1967, (163), 60-64.
15. D. P. Shcherbov and R. Korzheva, *Tesisy dokladov soveshchaniyapo lyuminesesenta.* 1958, p. 65.
16. M. Marcantonatos, G. Gamba, and D. Monnier, *Helv. Chim. Acta*, 52, 538(1969).
17. A. K. Babko and A. Vasilevskaya, *Ukr. Khim. Zh.*, 33, 314(1967).
18. M. Marcantonatos, D. Monnier, *Helv. Chim. Acta*, 47, 705-710(1964).
19. V. Rigin and N. Melnichenko, *Zavod. Lad.*, 33, 3 (1967).
20. J. Radley, *Analyst*, 69, 47(1944); *Anal. Chem.*, 21, 1345(1949).
21. D. Momier and M. Marcontoats, *Anal. Chim. Acta*, 36, 360-365(1966);
22. M. Marcantonatos, A. Marcantonatos and D. Monnier, *Helv. Chim. Acta*, 48, 194-201 (1965).

23. Cf. Mitt, Geb. Lebensmittelunters, Hyg, 63, 212-222 (1972),
24. M. Marcantonatos, D. Monnier and J. Daniel, *ibid*, 35, 309-316 (1966).
25. B. Liebich, P. Monnier and M. Marcantonatos, *ibid*, 52, 305-312 (1970).
26. D. Monnier, C. A. Menzinger and M. Marcantonatos, *ibid*, 69, 233-237 (1972).
27. L. Szebelledy and F. Gaal, Z. Anal. Chem., 98, 255 (1934).
28. CA, 1964, 60 15109h.

第二节 硅的荧光分析

1. 钼酸铵法(1).

硅与试剂在氨中形成的络合物而用于荧光测定, $\lambda_{ex}475\text{nm}$, $\lambda_{em}605\text{nm}$. 此法能检测至低于3ppb的硅。

2. 安息香法(2).

在紫外光照射下, 微量 SiO_3^{-2} 离子与安息香在甲酰胺介质中会发生绿色荧光。此法测定范围为0.08—0.4微克硅/毫升。

操作手续:

先将试样中硅转化为硅酸钠形式, 在铂皿中蒸干, 残渣溶于1毫升水及0.5毫升15%无硅的氢氧化钠溶液中, 边搅拌边加入0.03克甘露醇。用15毫升甲酰胺将溶液转移并漂洗至25毫升容量瓶中, 加入0.5毫升饱和的安息香甲醇溶液及0.5毫升2%盐酸羟胺溶液, 以甲酰胺稀释至刻度。同法配制一定空白液。在加入安息香后60分钟, 对照空白液测量荧光强度, 然后由工作曲线求出

试样中硅含量。

3. 胭脂红酸法⁽³⁾。

硅钼酸盐与胭脂红酸形成的络合物，在缓冲水溶液中能作荧光读数，可检测至每毫升3纳克的硅。

操作：将10毫升约含0.5—5微克硅的样品溶液与1毫升10%七钼酸铵溶液混匀，用氢氧化铵调节PH=7.2—7.6。然后用2N硫酸酸化至PH等于1.5。放置20分钟，加入5毫升1:3硫酸，再用10毫升异戊醇萃取生成的硅钼酸络合物。用10毫升0.5N硫酸清洗有机萃取剂，再用0.2N氢氧化铵分两次，每次5毫升再萃取硅钼酸盐。蒸发萃取液至干并移至5毫升0.05%胭脂红酸溶液中，最后加入5毫升PH=5.2的醋酸盐缓冲溶液并稀释至25毫升后作荧光检测。 $\lambda_{ex}475nm$, $\lambda_{em}605nm$ 。

参考文献：

1. K. Kasiura, *Chemia. Anal.*, 14, 1325 (1969) .
2. G. Elliott, J. A. Radley, *Anal. Chem.*, 33, 1623 (1961) .
3. Krzysztof Kasiura, *Chem. Anal*, 14, 1325—1329 (1969) .

第三节 硝酸盐及亚硝酸盐的荧光分析

一、概述

硝酸根的荧光分析方法，主要是利用硝酸根的熄灭荧光作用。其次，能将硝酸根还原成亚硝酸根，再按亚硝酸盐的荧光分析法进行检测。

亚硝酸盐的荧光分析方法，主要是根据亚硝酸根能与多种氨基荧光试剂发生重氮反应，生成的重氮盐离子能熄灭试剂的荧光。此类方法灵敏度都较高，在实际分析中均有使用价值。

二、分析方法

1. 2, 3—二氨基萘法(1)。

用硫酸肼还原硝酸根成亚硝酸根，然后在稀盐酸中与试剂反应，用四氯化碳萃取，作荧光读数。 $\lambda_{ex}364\text{nm}$ ， $\lambda_{em}412\text{nm}$ 。可检测至0.01ppm—1.13ppm。此法也可直接用于检测亚硝酸盐，其检测灵敏度为 10^{-8} 克/毫升。

操作方法如下(2)。

往50毫升含有高达85微克亚硝酸盐的样品溶液中，加入10毫升0.05%2, 3—二氨基萘的1N盐酸溶液。放置2分钟后，用四氯化碳萃取两次，每次用5毫升。合并萃取液，在荧光峰335nm处读数。荧光操作步骤适于高达850纳克的亚硝酸盐，但是锡、硒、铜、铝、铋、镍、铬、铁有严重干扰。

2. 荧光素法(3)。

硝酸根与试剂在浓硫酸介质中会发生反应而生成二硝基染料，因而引起荧光素的荧光强度下降。当荧光素浓度保持一定时，其荧光强度下降程度将取决于硝酸根离子的含量。据此可用来测定试样中硝酸根的含量。测定时，加试样溶液于含有 $5 \times 10^{-7}\text{M}$ 荧光素试剂的浓硫酸溶液中(这时溶液的硫酸浓度不应低于87%)，45分钟后用435nm射线激发，于485nm处测量荧光强度，并由工作曲线求出硝酸根含量。此法测定硝酸根离子的范围为0.01—0.15微克/毫升。

3. 2—苯并噻唑法(3)。

硝酸根能与2—苯并噻唑在浓硫酸中发生反应，生成6—硝基苯并噻唑而作荧光检测。

自来水中硝酸根的测定：

含硝酸根约为0.01—3微克的自来水样品与2-苯并噻唑在浓硫酸中发生反应，生成6-硝基苯并噻唑。用乙醚萃取后蒸去溶剂，然后将残余物溶在氨性二噁烷溶剂中，作荧光读数。 λ_{ex} 358nm, λ_{em} 457nm。氯化物、高氯酸盐、亚硝酸盐或亚铁离子能产生干扰，可用加入亚硫酸、亚硫酸盐或硫酸根来阻止。

4. 5-氨基荧光素法(4)。

此法检测亚硝酸盐的灵敏度较高，能检测至50皮克/毫升。

操作方法：

有色试剂的配制：将0.05205克5-氨基荧光素溶解在25毫升无水甲醇中，加入4毫升盐酸，用水稀释至100毫升。

在7毫升样品溶液中，加上1毫升配制的有色试剂稀释，以使溶液中的亚硝酸盐的浓度比样品中的亚硝酸盐的摩尔数稍多1.1倍。加入2毫升1:1的盐酸，放置一段时间，为了使其荧光稳定至最大值。但放置时间最长为60分钟。然后加入5毫升5.4N氢氧化钠溶液，混匀，放置5分钟后作荧光读数。 λ_{ex} 490nm, λ_{em} 515nm。在此后的24小时内，荧光强度均不变。

5. 联苯胺法(5)。

亚硝酸盐能与联苯胺生成络合物，可用荧光法或分光光度法来测定。

荧光法操作方法：

试剂配制：取0.1842克联苯胺，溶解在100毫升乙醇中，在0℃贮存。用时取2毫升，然后用0.2N盐酸稀释至1升。把0.5毫升样品溶液（内含0.25—0.125 μ M亚硝酸盐）与0.5毫升试剂混合，在100℃加热1分钟。然后放在冰水浴中却，冷再加入9毫升乙醇，作荧光读数。 λ_{ex} 326nm, λ_{em} 387nm。按此操作可以避免试剂荧光的干扰。0.5mM的Cu²⁺、Sn²⁺、Fe³⁺、Al³⁺有严重干扰；0.1mM柠檬酸、丙二酸、硫氰酸、钼酸盐和钨酸盐离

子有干扰；50 μ m氧化剂和还原剂有干扰。各种不同的酸度和乙醇的量会使荧光峰产生偏移。

6. 2,6—二氨基吡啶法(6)。

用亚硝酸盐将对氯苯胺重氮化，然后与2,6—二氨基吡啶偶合。用硫酸铜溶液处理生成的偶氮络合物，得到一种能产生强荧光的三唑化合物。

操作方法：

配制氨的硫酸铜溶液：把1克无水硫酸铜溶解在10毫升水中（其中含3毫升氨水）。

配制PH=5的缓冲溶液：将400毫升1M乙酸钠与116毫升1M盐酸相混合，然后稀释到1升。

往含0.02-0.2微克的亚硝酸盐样品溶液中加入0.1毫升1:1的盐酸，再加入0.3毫升0.06%对一氯苯胺溶液，放在冰水浴中冷却15分钟。加入0.3毫升4%氨基磺酸胺溶液，然后混匀。放置5分钟后，加2毫升0.025%2,6—二氨基吡啶（溶在PH=5的缓冲溶液中）。混匀后在冰水浴中冷却30分钟。用几毫升水帮助，将上述溶液转移到分液漏斗中，用6毫升苯萃取30秒钟。用水洗涤有机层两次，每次6毫升。用几毫升苯帮助把有机层转移到10毫升容量瓶中。在氮气流中于100℃蒸干。加入2毫升水，然后加0.4毫升氨的硫酸铜溶液。盖好容量瓶，在100℃加热30分钟，冷却。加入0.45毫升1:1盐酸并稀释到刻度。在烧结漏斗上过滤，作荧光读数。 $\lambda_{ex}360nm$ ， $\lambda_{em}430nm$ 。用水作空白比较。

7. 4—氨基苯甲酸法(7)。

亚硝酸盐能使4—氨基苯甲酸重氮化，生成的重氮盐离子能熄灭4—氨基苯甲酸的荧光。

操作方法：

肉中亚硝酸盐的测定：把从肉品中提取出的含水萃取物，

与4-氨基苯甲酸的酸性溶液在100℃加热20分钟。4-氨基苯甲酸的荧光被形成的重氮盐离子熄灭。用硼酸缓冲溶液调PH=1。作荧光读数。 $\lambda_{ex}265nm$, $\lambda_{em}339nm$ 。作空白试验, 减去本底。

参考文献:

1. C. Sawicki., *Anal. Letters*, 4, 761(1971).
2. James H. Wiersma, *Anal. Lett.*, 3, 123—132(1970).
3. H. D. Axelrod, J. E. Bonelli, J. P. Lodge, *Anal. Chim. Acta*, 51, 21(1970).
4. Saburo Nakano, Tomohiko Yoshida and Hirokazu Taniguchi, *Chem. Pharm. Bull*, 25, 1237—1242(1977).
5. Herman D. Axelrod and Nancy A. Engel, *Anal. Chem.*, 47, 922—924(1975).
6. Gen-ichiro Oshina and Kinzo Nagasawa, *Chem. Pharm. Bull. Tokyo*, 20, 1492-1498 (19-72).
7. Lawrence D. Dombrowski and Edward J. Pratt, *Anal. Chem.*, 44, 2268-2272 (1972).
8. Elia D. Coppola, Alphonse F. Wickroski, and J. Gordon Hanna, *J. Assoc. Off Anal. Chem.*, 59, 783-786 (1976).

第四节 氰化物、氨和胂的荧光分析

一、氰化物的荧光分析

1. 氯胺T及菸酰胺法(1)。

氰化物在氢氧化钾—碳酸氢钾溶液中会被氯胺T转化为氯化氰，它能在碱性溶液中使菸酰胺的吡啶环开环，形成会发生亮蓝色荧光的产物，可用于测定微量氰化物，测定范围为0.3—0.6微克/毫升。

二甲氨基氰磷酸乙酯中氰化物检测：

让气体样品以500毫升/分的速度通过4个串联的起泡器。第一、二个起泡器中每个含10毫升的邻苯二甲酸二乙酯或邻苯二甲酸二丁酯。另外两个起泡器，每个含2毫升0.5N氢氧化钾。用1毫升水洗出第三、第四个起泡器中的有效成份。加入2毫升0.5N氢氧化钾，4毫升2N碳酸氢钾，2毫升25%烟酰胺溶液和2毫升25%氯胺T溶液。稀释到2毫升。精确等3分钟后，加4毫升6N氢氧化钾，清除黄颜色干扰。通常在荧光峰值处测定荧光。

2. 钯与8-羟基喹啉—5-磺酸的络合物法(2)。

钯与8-羟基喹啉—5-磺酸钾组成的络合物，在碱性溶液中，在紫外线照射下并不发生荧光，但在氰化物存在时，氰离子从该络合物中夺取钯离子以组成 $\text{Pd}(\text{CN})_4^{-2}$ 络离子，而定量地释出8-羟基喹啉—5-磺酸钾。这时加入镁离子，它将和8-羟基喹啉—5-磺酸钾组成强荧光的镁络合物，在紫外光照射下发绿色荧光。由镁络合物的荧光强度可以间接求出氰化物含

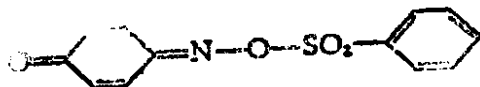
量。此法测定CN⁻范围：0.1—0.8微克/毫升。SCN⁻、S²⁻和硫醇也反应，因此有干扰。

操作方法：首先制备试剂的钾盐：把4.5克8-羟基喹啉-5-磺酸加到含有2.14克氯化亚钨的300毫升5%的硫酸中。加热煮沸，然后冷却。加入饱和的碳酸钾溶液，直到不再产生二氧化碳气泡为止。将产生的黄色螯合物沉淀过滤。并依次用10%碳酸钾溶液、水、乙醇和乙醚洗涤这个沉淀，然后制成0.01%溶液。

依次将1毫升1N氢氧化钠，1毫升样品，1毫升7.74%甘氨酸的5.86%氯化钠溶液，1毫升0.01%试剂溶液和1毫升1%氯化镁溶液混匀。放置8分钟，作荧光读数。 $\lambda_{em}640nm$ 。

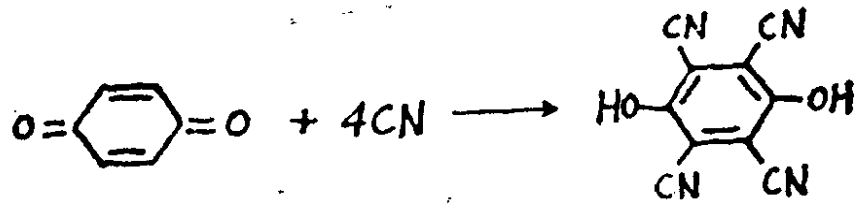
3. 苯醌肟苯磺酸酯化(3)。

试剂结构：



它和氰化物反应所生成的化合物，能在紫外光照射下发生强的蓝绿色荧光。激发峰440nm，荧光峰500nm。绝大多数阴离子对此反应无干扰。这一反应可检测低至0.5微克的氰离子。进一步研究发现CN⁻能与许多类似对苯醌的衍生物发生缩合反应而生成荧光产物。测定时，将在0.1毫升含CN⁻的PH7.0的磷酸盐缓冲溶液中加至3毫升 $3.4 \times 10^{-4}M$ 对苯醌衍生物的二甲亚砷溶液中，荧光在室温时迅速显出。发现对苯醌和N-氯一对苯醌亚胺两种试剂灵敏度最高。

CN⁻与对苯醌的反应式如下：



产物的激发峰400nm, 荧光峰480nm。在一个较大的浓度范围, 0.2—50 $\mu\text{gCN}^-/\text{ml}$, 荧光强度正比于 CN^- 的浓度。

4. 1,4-苯醌法(4)。

原理同上法。为了测定用水浸渍的在植物材料中的氰化物, 将其用水蒸汽蒸馏到0.01N氢氧化钠溶液中去。用盐酸和一种磷酸盐的缓冲溶液来调整这蒸馏液的 $\text{PH}=6.5-6.7$ 。取一份试样与0.68mM 1,4-苯醌的二甲亚砷溶液混合, 然后在50 $^{\circ}\text{C}$ 加热45分钟, 冷却, 做荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}405\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}485\text{nm}$ 。

5. 2-(苯并噁唑-2基)酚法(5)。

往1份无硫化物的样品溶液中, 加0.4毫升1mM的硝酸铜溶液并稀释到50毫升。加1毫升1N氢氧化钠和1mM 2-(苯并噁唑-2基)酚乙醇液, 稀释到100毫升, 作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}355\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}439\text{nm}$ 。比尔定律最高允许范围为每毫升含200纳克的氰化物。

6. 吡哆醛法(6)。

氰离子能催化氧化吡哆醛成4-吡哆酸的内酯而用以荧光检测。 $\lambda_{\text{ex}}365\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}432\text{nm}$ 。此法能检测低于0.02ppm氰离子。

操作方法:

将含量约为50nM氰离子的样品酸化, 在溶液中通入氮气并将氢氰酸吸收在含有0.1N氢氧化钠的两个试管中。将两个试管中吸收的有效成份混合, 加入3.5毫升0.2M $\text{PH}=7.5$ 的磷酸盐

缓冲溶液和0.5毫升6 mM盐酸吡哆醛溶液，在50℃加热1小时。冷却，加入1毫升0.2M碳酸钠，作荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$ ， $\lambda_{em}432\text{nm}$ 。用本底作校正。

7. 2',7'-双醋酸汞荧光素法(7)。

试剂的微碱性溶液，在阳光照射下会发生荧光。它的荧光强度随溶液中碘离子浓度增大而增强。如试剂和碘离子的浓度保持稳定时，溶液的荧光强度却随着溶液中氰离子含量的增大而减弱，据此可用来测定微量氰离子。在0.1—0.4微克/毫升范围内，其测定误差约为6%。0.005M的溴化物存在会使荧光强度减弱。

8. 四醋酸汞荧光素法(8)。

氰离子能熄灭试剂的荧光。

操作方法：

将3毫升0.01—0.1 μM 氰化物样品与含有PH=5—8的缓冲溶液的四醋酸荧光素溶液混合，在 $\lambda_{ex}515\text{nm}$ 处激发，作荧光读数。硫化物能产生干扰，但可用加入甲醛的方法来掩蔽。硫氰酸盐也能产生与氰化物相同的效应。

二、氨的荧光分析

1. Hantzsch反应(9)。

甲醛加二酮与 NH_4^+ 生成二甲基吡啶衍生物。产物在紫外光照射下发生荧光。 $\lambda_{ex}405\text{nm}$ ， $\lambda_{em}510\text{nm}$ ，此法检测限度为0.01—0.25ppm。

2. NADH法(10)。

利用酶法反应以荧光测定 NH_4^+ 。

三、胂的荧光分析

1. 水杨醛法(11)。



肼和水杨醛反应，生成化合物水杨叉吡嗪，其结构为：
 在紫外光照射下，会产生黄橙色荧光。此法灵敏度高，选择性强，可检出低至 5×10^{-10} 克肼。硝酸盐、亚硝酸盐、叠氮化合物、羟胺、铵盐和强还原剂并不干扰。

参考文献：

1. J. S. Hanker, R. M. Gamson and H. Klapper, *Anal. Chem.*, 29, 879 (1957).
2. J. S. Hanker, A. Gelbery, B. Witten, *Anal. Chem.*, 30, 93 (1958).
3. G. G. Guilbault, D. N. Kramer, *Anal. Chem.*, 37, 918, 1395, (1965).
4. J. G. Jeffrey and L. I. Wiebe, *Con. J. pharm. Sci.*, 6(3), 53-54 (1971).
5. F. Vernon and P. Whitham, *Anal. Chim. Acta*, 59, 155-156 (1972).
6. S. Takanashi and Z. Tamura, *Chem. Pharm. Bull. Tokyo*, 18, 1633 (1970).
7. G. Colovs, M. Haro, H. Freisr, *Talanta*, 17, 237 (1970).
8. M. Wronski, *Chem. Anal.*, 15, 215-217

- (1970).
9. S. Belman, Anal. Chim. Acta, 29, 120
(1965);
V. Sardesai and H. Provide, Mikrochem. J.,
14, 550 (1969)
10. M. Rubin and L. Knatt, Clin. Chim. Acta, 18, 409 (1967).
11. Л. М. Кульберт, Т. С. Ильина, Укр. хим. журн., 1955, 21, 97.

第五节 磷的荧光分析

一、概述

磷的荧光分析方法，主要以磷酸根的形式来进行的。它有两种类型：一是磷酸根的熄灭荧光效应，它能使具有荧光的络合物的荧光熄灭，由此来检测磷酸根的含量；二是将磷酸根首先转化成磷钼酸盐，利用磷钼酸盐能与试剂络合生成荧光产物或熄灭试剂荧光的方法来加以检测。第二种类型是磷的主要荧光分析方法，有一定的实用价值。磷的酶法检测，也能用在分析应用上，但文献中报导的分析方法较少。

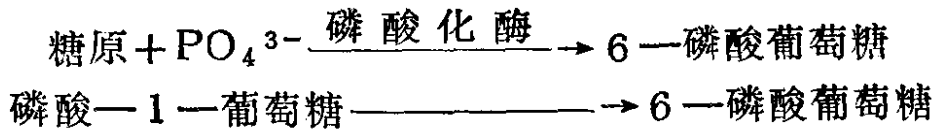
二、分析方法

1. 铝—桑色素法(1)。

铝—桑色素络合物的荧光能被磷酸根熄灭，此法可检测至 0.05—1 ppm. $\lambda_{em} 510nm$.

2. 酶法 (NADPH) (2)。

此法测定原理：



$\text{6-磷酸葡萄糖} + \text{NADP} \xrightarrow{\text{E}} \text{NADPH} + \text{磷酸葡萄糖内酯}$
由NADPH的荧光强度的测定，可求磷酸盐的含量。此法灵敏度为 $2 \times 10^{-11} \text{M}$ 。

3. 磷钼酸盐—罗丹明B法(3)。

磷钼酸盐与罗丹明B所生成 1 : 3 的离子缔合物，在紫外光照射下会发生荧光， $\lambda_{\text{ex}} 350 \text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}} 575 \text{nm}$ 。据此可用以测定试样中磷酸盐的含量。测定时，先把磷酸盐转化为磷钼酸盐，再与罗丹明B反应而生成磷钼酸盐罗丹明B缔合物。由于罗丹明B在紫外光照射下亦会发生荧光，并且其荧光峰与上述缔合物相近。因此，溶液中剩余的罗丹明B须先用氯仿萃取弃去，再用氯仿—丁醇萃取磷钼酸盐罗丹明B缔合物，然后测量萃取液的荧光强度。在 0.004—0.06 微克磷/毫升萃取液范围内，荧光强度与磷含量呈线性关系。此法的选择性较高，硅酸盐无干扰，砷(III)钒(V)的容许量分别为磷酸盐量的 25 和 50 倍。唯有砷(V)对此有严重干扰。

操作方法：

往 100 毫升的分液漏斗中加入 5 毫升 0.056M 钼酸钠试剂、0.5 毫升浓盐酸、5 毫升 $2.4 \times 10^{-4} \text{M}$ 罗丹明B试剂溶液，然后加入含 0.04—0.6 微克磷的试样溶液，混合后放置 10 分钟，加 10 毫升氯仿，摇荡，分层后弃去有机相，重复一次。加入 10 毫升 4 : 1 (v/v) 氯仿—丁醇溶液，摇荡，分层后，移出萃取液。然后测荧光强度。 $\lambda_{\text{ex}} 350 \text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}} 575 \text{nm}$ 。由工作曲线求出磷含量。

也可将 250 毫升 3% 钼酸钠与 250 毫升水混合，加入足够量的

盐酸至溶液酸度为 1 N，放置 10 分钟后，用 4 : 1 的氯仿—丁醇液萃取两次，萃取液用量为每次 100 毫升，弃去有机萃取剂，即制成钼酸盐试剂。取配成的钼酸盐试剂 5 毫升，与 5 毫升磷的试样溶液混合，按上述方法操作后作荧光读数(4)。

血清或尿中磷的检测(5)。

试剂配制：

将 8 克二水合物的钼酸钠和 2.5 克吡咯烷酮溶在 880 毫升 1 : 10 的盐酸中，然后加入 16 毫升 4.15mM 罗丹明 B 和 1 毫升 20% Brij35 (一种高级脂族醇的聚氧乙醚)，稀释至 1 升，即配成试剂。

取 10 毫升血清或稀尿与 4 毫升试剂混匀，放置 20 分钟，然后在 $\lambda_{em}570nm$ 处作荧光读数。遵守比尔定律的范围为每 100 毫升溶液中磷酸盐含量高至 9 毫克。

4.3 一羟基-3',4'-二甲氧基芴法(6)。

3-羟基-3',4'-二甲氧基芴试剂本身具有荧光，在镁离子存在下，磷钼酸盐能减弱此试剂的荧光，由此可用荧光分析法检测磷的含量。遵守比尔定律的范围为每毫升氨缓冲溶液中含 12 微克的磷。

如尿中磷的测定，其操作方法为：将含量约为 10 微克的尿样品与 10% 四水合钼酸铵的水溶液混合，稀释至 25 毫升。用异丁醇萃取两次，异丁醇的用量为每次 10 毫升。将两次萃取液合并，蒸干。然后用 1 毫升 0.5MOPH=10.7 的铵缓冲液萃取蒸干的残渣。取此萃取液 0.5 毫升，与 2 毫升 0.25mM 3-羟基-3',4'-二甲氧基芴试剂和 2 毫升硝酸锰溶液 (每毫升溶液中约含 2 微克锰) 混合，再用二甲基甲酰胺稀释至 10 毫升。用此稀释液作荧光读数。 $\lambda_{ex}445nm$, $\lambda_{em}497nm$ 。用样品本底与标准物作比较，可计算出样品中磷的含量。

5. 磷钼酸奎宁法(7)。

将磷酸盐转化为磷钼酸盐，然后与奎宁生成荧光络合物。此络合物能用沉淀法分离，分离后的沉淀溶在酸性丙酮溶液中，可作荧光读数。

标准试剂的配制：

取500毫升1.5%钼酸钠的1N硫酸溶液，用4:1氯仿—丁醇溶液分两次萃取，萃取用量为每次100毫升。然后将有机相弃去，留下水相作标准试剂。

操作方法：

取2毫升试剂溶液与2毫升样品溶液（其中含磷量不少于1微克）以及4.8N硫酸混匀，放置5分钟后加入1毫升0.783%硫酸奎宁的0.1N硫酸溶液，在100℃加热5分钟，使磷钼酸与奎宁络合。冷却后离心，弃去上层清液，用5毫升1N硫酸洗沉淀。将清洗过的沉淀取出溶在5毫升9:1的丙酮—1N硫酸溶液中。取此溶液作荧光读数。 $\lambda_{ex}352nm$ ， $\lambda_{em}445nm$ 。

6. 硫胺法。

当磷转换成磷钼酸盐后，可将硫胺氧化成脱氢硫胺素用于荧光读数。如有汞存在时，可增强荧光，因此产生干扰。铍、硅酸盐和硫化物也能产生干扰。在PH=8时，脱氢硫胺素灵敏度最高，而且能稳定数小时。此法遵守比尔定律的范围至50ppb。

操作方法(8)：

取5毫升中性样品溶液，内含约0.05—1微克磷酸盐，在其中加入1毫升1:100硫酸溶液。然后按顺序加入0.8毫升0.01M钼酸铵和0.8毫升0.001M硫胺。再加入2毫升0.1M硼砂缓冲溶液，稀释至10毫升后作荧光读数。 $\lambda_{ex}375nm$ ， $\lambda_{em}440nm$ 。用本底荧光作校正。

半导体硅中磷的测定(9)：

将0.1克样品溶在氢氟酸与含金离子作催化剂的过氧化氢混合液中，在110℃加热45分钟。然后在水蒸汽浴中蒸发至干以除

去氟硅酸。将残渣取出溶在0.5N盐酸中，并中和至PH=7.5-8，作荧光检测。如果不用聚四氟乙烯作容器，则测出的本底值偏高。

肾液中磷的测定：(10)。

试剂配制：取25毫升1%硫酸，20毫升0.1M四水合七钼酸钠和20毫升1mM硫胺溶液混合，即配成试剂。

在离心管中，将4微升样品，2.5微升新制备的试剂和2微升0.1M四硼酸钠溶液混合，混匀后离心，用冷的矿物油覆盖并放置30分钟，待硫胺完全氧化成脱氢硫胺素后作荧光读数。 λ_{ex} 365nm, λ_{em} 440nm。氧化产物能稳定数小时。蛋白质产生的干扰可用紫外滤光器除去。

参考文献：

1. D. B. Land and S. Edmonds, *Mikrochim. Acta*, 1013 (1966).
2. D. W. Schulz, J. V. Passonneau, O. H. Lowry, *Anal. Biochem.*, 19, 300-314 (1967).
3. C. F. Kirkbright, R. Narayanswamy, T. S. West, *Anal. Chem.*, 43, 1434 (1971).
4. Norimasa Yoza and Shigeru Ohashi, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 37, 33-37 (1964).
5. A. Garcia and J. Kratochvila, *Clin. Chim. Acta*, 26, 29-34 (1975).
6. Tokishi Hayashi, Chieko Yagi, Shiuji Ohgaki, and Takeo Ohero, *Chem. Pharm. Bull.*,

- Tokyo 21, 2141-2145 (1973) .
7. G. F. Kirkbright, R. Narayanaswamy and T. S. West, *Analyt.*, 97, 174-181 (1972) .
 8. J. Holzbecher and D. E. Ryan, *Anal. Chim. Acta*, 64, 147-150 (1973) .
 9. Pier Luigi Buldini and Dians Sandrina, *ibid.*, 98, 401-404 (1978) .
 10. Michele G. Brunette, Norman Vigault and Gaby Danar, *Anal. Biochem.*, 86, 229-237 (1978) .

第六节 砷的荧光分析

一、概述

砷的荧光分析方法很少。在实际工作中，只有几个方法能被应用。

砷与罗丹明B及Cl⁻能生成三元络合物，然后用苯萃取生成物而作荧光读数。砷还能与硝酸铈酰试剂生成沉淀，此种沉淀在紫外线照射下产生黄绿色荧光，能被分离出来而用于检测。

砷(Ⅲ)在铈的催化下，能被铈(Ⅳ)氧化。在反应中，四价铈被还原成亚铈离子而显出紫外荧光。检测亚铈离子的荧光强度，即可间接测出砷的含量。还可用腐蚀剂升汞浸过的纸条对砷作Gutzeit试验，观察形成的亚砷酸的荧光，此法能检测低于1微克的亚砷酸酐。

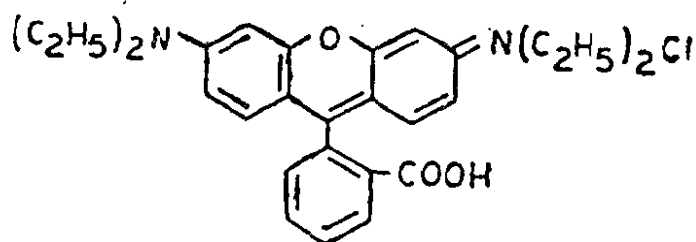
砷的几种荧光分析法的灵敏度如下表：

试 剂	分析方法	检测灵敏度(ppn)
罗丹明B+Cl ⁻	形成三元络合物	0.06
硝酸铈酰	荧光络合物	100
Gutzeit试验	化学反应	1.0
钼催化的铈(IV)—砷(III)反应	间接分析	7.5

二、分析方法

1. 罗丹明B法(1)。

试剂结构：



它能与砷(III)及Cl⁻生成三元络合物而用于荧光测定。

操作手续：

取1毫升含有0.3—1.5微克的三价砷的样品溶液，在其中加入1毫升0.1mM碘酸钾，1毫升0.1mM罗丹明B溶液和1毫升1:1盐酸溶液。在盐酸中砷被碘酸根氧化，生成氯碘酸离子，它与罗丹明B络合。然后用5毫升苯萃取，作荧光读数。 $\lambda_{ex}550nm$ ， $\lambda_{em}590nm$ 。

此法可检测至每毫升萃取剂中含0.06—0.3微克砷。铁、铜、镓、锡有干扰。

2. 钼催化的铈(IV)—砷(III)反应(2)。

在0.1N硫酸中，铈(IV)氧化砷(III)的反应可用八价钼催

化。在反应中铈(IV)被还原成亚铈离子而显出荧光。 $\lambda_{ex}260$ nm, $\lambda_{em}350$ nm。

方法灵敏度为7.5-37.5微克。

硝酸根、铁离子、EDTA、柠檬酸根和酒石酸根有干扰。

3. 其它方法。

铈的荧光分析法, 还有硝酸铈酰法⁽³⁾, 铈与试剂生成沉淀, 在紫外光照射下产生黄绿色荧光, 能被分离出来而用于检测, 此法灵敏度为1:10,000。Gutzeit test法⁽⁴⁾, 此法灵敏度为1微克。

参考文献:

1. Daijiro Yamamoto and Ken-Ichiro Kisu, Jap. Anal, 23, 638-644 (1974).
2. G. F. Kirkbright, T. S. West and C. Woodward, Anal. Chim. Acta, 36, 298-303 (1966).
3. H. Goto, Sci. Rept. Tohoku Imp. Univ., Ser. 1, 29, 204 (1940), *ibid.*, 287 (1940).
4. M. Haitinger, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, Wien-Leipzig, 1937.

第七节 氧的荧光分析

一、概述

氧的荧光分析, 由氧、过氧化物和臭氧的荧光分析法组成。

其基本原理都是利用氧化作用，使原来不具有荧光的试剂，生成能产生荧光的化合物而作荧光检测。

二、氧的荧光分析法

1. 荧光生（荧光素无色母体）法(1)。

荧光生，又名还原荧光素，可在氮气或其它惰性气流中用锌尘还原荧光素的碱性溶液而制得。其碱性溶液可用于氧的分析。当被分析的气体混合物以气泡的形式通入此试剂溶液时，如有氧存在，可将荧光生氧化成荧光素而使溶液开始出现荧光。

荧光强度取决于氧化试剂的量，因此可测出通入试剂中的气体所含氧的量。

2. 肾上腺素法(2)。

在25%碱中，肾上腺素并不显示出典型的黄绿色荧光。如用含有痕量溶解的氧的水稀释肾上腺素溶液，则出现典型的黄绿色荧光。肾上腺素的荧光强度正比于溶于水中的氧的量。此法可检测低于1 ppm的氧。适用于定量测定溶于水中的痕量的氧。

3. 硼酸盐—安息香络合物法(3)。

在乙醇溶液中，试剂对氧十分灵敏。

4. 9,10—二氢吡啶法(4)。

试剂在氧存在下氧化成吡啶。二氢吡啶的荧光强度极高，它与氧的反应很迅速，能测至低于1微克/5毫升体积气体。偏差在±15%。此法实际上已被应用，它比对臭氧的分析更灵敏。

5. 吡啶黄法(5)。

利用氧吸收试剂的磷光而用以测定。试剂如吸附在硅胶上（或其它固体上）时比在溶液中具有更强的荧光和磷光。吡啶黄的绿色磷光对氧极其灵敏，在 5×10^{-5} mm汞柱压力下被它半熄灭。能检测低于 10^{-11} 分子氧。

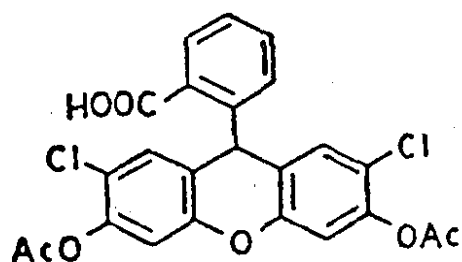
6. 丙酮法(6)。

纯丙酮蒸气在紫外光照射下会发生光分解作用而呈现绿色荧光，丙酮蒸气中如有微量氧存在，荧光将呈淡蓝色。如果继续以紫外光照射，荧光的颜色将由淡蓝色明显地转变为绿色，而荧光变色所需的时间和丙酮蒸气中氧含量有关。根据这一现象建立了氮气中微量氧的荧光分析法，由荧光变色时间来测定试样中的氧含量。

三、过氧化氢的荧光分析法

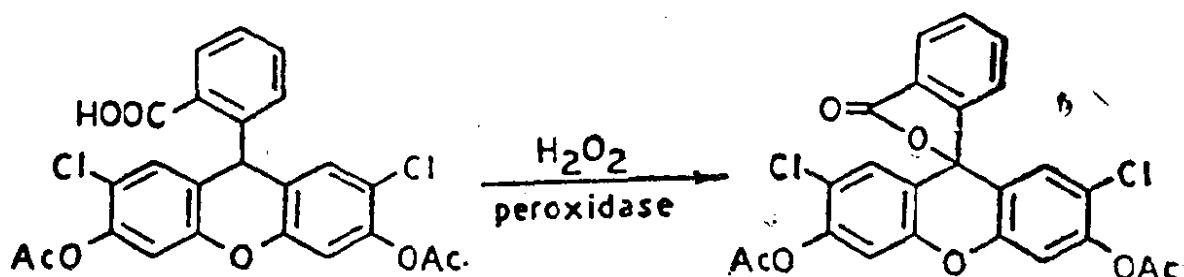
1. 二乙酰基—2',7'—二氯荧光素法(7)。

试剂结构：



它的制备为：先将2',7'—二氯荧光素用锌还原为二氯二氢荧光素，继和醋酐反应而成。

试剂本身无荧光，在微碱性溶液（PH=7.2）中，当有过氧化物酶存在时，能与过氧化氢作用，其反应式如下：



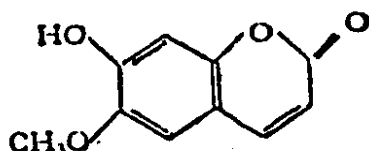
氧化产物二乙酰基二氯荧光素具有很强的荧光， $\lambda_{ex}503nm$ ， $\lambda_{em}525nm$ 。此法非常特效。测定范围为 $2 \times 10^{-11} - 3 \times 10^{-10}$ 克分子 H_2O_2 /毫升。但如分析的过氧化氢浓度极低，则在生物样品中，有些氧化物质可能产生干扰。有些取代的酚类在高浓度下能氧化试剂，从而使结果偏高。这样需事先用蒸馏的方法分离之。

操作方法：

将一体积 $10^{-4}M$ 试剂的乙醇液与9体积的 $0.01N$ 氢氧化钠溶液相混合，放置15分钟。然后用 $PH=7.2$ 的磷酸盐缓冲溶液〔溶液中含 0.08% 硫酸锌和 $3 \mu g/ml$ 的辣根过氧化物酶（每毫升含2.2单元）〕稀释到 $1 \mu M$ 浓度，这个溶液没有荧光。取3毫升溶液与每毫升含3到 30×10^{-11} 摩尔的 H_2O_2 的样品0.2毫升相混合，并在 $37^\circ C$ 放15分钟。然后冷却5分钟，作荧光读数。 $\lambda_{ex}486nm$ ， $\lambda_{em}519nm$ 。

2. 苝若亭（6—甲基—7—羟基香豆素）法⁽⁹⁾。

试剂结构：



在过氧化酶的存在下，过氧化氢能将苝若亭氧化，因而使这一试剂的荧光强度降低。对于一定浓度的苝若亭溶液，它的荧光强度的降低程度和过氧化氢的浓度呈线性关系。此法可用以测定含量低至 10^{-10} 克分子的过氧化氢。某些还原剂（如抗坏血酸及锰离子）的存在会妨碍这一氧化反应，测定时须加以除去。

根据这一反应已建立一超微量过氧化氢测定法。测定时将0.1毫升试样溶液和0.1毫升苝若亭溶液及0.1毫升过氧化物酶液

混合（溶液中莨菪亭在与过氧化氢反应之后应留下原量的四分之一以上）。15分钟后加入0.3毫升0.15M硼酸盐缓冲溶液（PH=10），测定荧光强度。另以0.1毫升水代替试样溶液，测定此空白液的荧光强度。由荧光强度的降低程度和标准曲线求出试样中过氧化氢含量。此法测定范围为 $1 \times 10^{-12} - 3 \times 10^{-11}$ 克分子 H_2O_2 ，适应于放射化学研究工作中超微量过氧化氢的测定。

3. 高香草酸法(10)。

试剂为3,4-二羟基苯乙胺的代谢物，并在组织及尿中发现。它可用作过氧化酶分析的荧光试剂。它的操作方法主要根据用铁氰化物氧化成荧光团。

以后发现，对羟基苯乙酸能用于代替上述试剂(11)。

4. 2-丙二酰硫脲法(12)。

用钨磷酸将在血液等离子体中的脂的过氧化物蛋白和脂类一起沉淀。用2-丙二酰硫脲与这沉淀反应，然后用丁醇萃取之，作荧光读数。 $\lambda_{ex}515nm$, $\lambda_{em}553nm$ 。

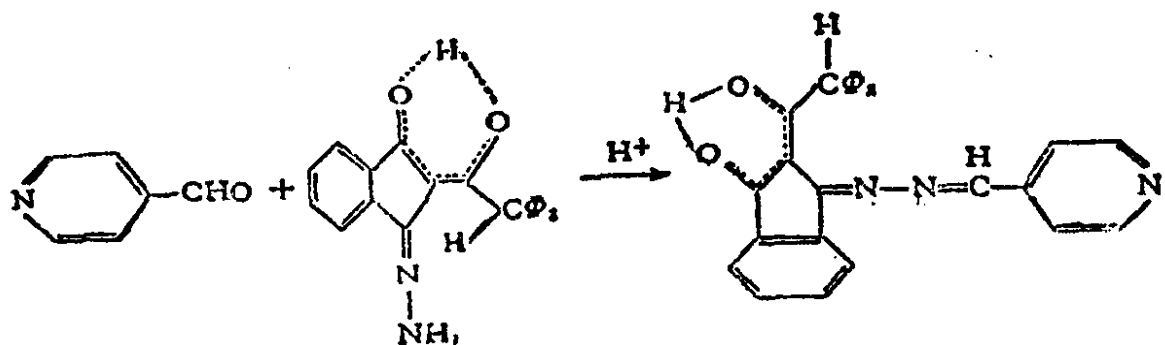
四、臭氧的荧光分析法

1. 9, 10-二氢吖啶法(13)。

试剂无荧光，能被臭氧选择性氧化成具有强荧光的吖啶。在醋酸-乙醇溶液中，其 λ_{ex} 为355nm， λ_{em} 为482nm。利用此法可检测在空气中的臭氧（在100毫升空气中，可检测至1微克，误差±5%）。此操作方法曾测定在莫斯科上空100米处臭氧的含量为0.02微克。

2. 1, 2-二-(4-吡啶基)乙烯法(14)。

臭氧与1,2-二-(4-吡啶基)乙烯在氯仿中发生反应而生成吡啶-4-甲醛，吡啶-4-甲醛与2-二苯乙酰-1, 3-茚满二酮-1-脞（简称2-DIH）发生下列反应：



所生成的化合物在阳光照射下会发生荧光。激发峰468nm，荧光峰536nm。每1.0微克臭氧可生成2.9微克的吡啶-4-甲醛。因此，在536nm测定该产品的荧光强度，可以求出吡啶-4-甲醛的含量，从而计算出大气中臭氧的含量。浓度在1微克吡啶-4-甲醛/毫升以下时，其荧光强度与吡啶-4-甲醛浓度呈线性关系。方法的测定下限为0.02ppm臭氧。

空气中臭氧的检测：

将含有5毫升0.25%1, 2-二(4-吡啶基)乙烯氯仿溶液的吸收体放入浸在-18°的冰盐浴的真空瓶中。与一空气泵相连接并校准真空泵速度。这是为了在气体通入以前，冻干(抽净)水蒸气。

当进样完成以后，用三氯甲烷稀释这吸收剂的有效成份到5毫升。取1毫升整，加入1毫升 $2.5 \times 10^{-4}M$ 的2-二苯乙酰-1,3-茛满二酮-1-脞的氯仿溶液。加入5微升的盐酸，塞上，并振动。在 $65 \pm 1^\circ C$ 加热30分钟，冷却并用氯仿稀释到5毫升。作荧光读数。 $\lambda_{ex}468nm$ ， $\lambda_{em}536nm$ 。

3. 鲁米那或荧光素法(15)。

此系荧光熄灭法测定空气试样中微量臭氧的含量。将鲁米那或荧光素吸附于硅胶粉末柱，让一定体积的含有臭氧的气体试样通过这个硅胶粉末上，则柱子荧光消失的高度和试样中臭氧含量成正比例。方法的测定范围为0.8-6.4微克臭氧。氮的氧化物对

此法没有干扰。

参考文献：

1. M. A. Konstantinova—Shlesinger, Zh. Fiz. Khim., 9, 6 (1938).
2. M. A. Konstantinova-Shlesinger and V. Krasnova, Zavod. Lab., 6 567 (1945).
3. C. A. Parker and W. J. Barnes, Analyst, 82, 606 (1957).
4. M. A. Konstantinova-Shlesinger, Tr. Fiz. Inst. Akad. Nauk SSSR Fiz. Inst. imi P. N. Lebedevo, 2, 7 (1942).
5. H. Kautsky and A. Hirsch, Z. Anorg. Allgem. Chem., 222, 126 (1935); J. Franck and P. Pringsheim., J. Chem. Phys., 11, 21, (1943).
6. G. H. Damon, P. Paniels, J. Amer. Chem. Soc., 55, 2363 (1933); G. H. Damon, Ind. Eng. Chem, Anal. Ed, 7, 133 (1935).
7. A. S. Keston and R. Brandt, Anal. Biochem, 11, 1 (1965).
8. Michael J. Black and Richard B. Brandt, Anal. Biochem, 58, 246-254 (1974).
9. W. A. Andreae, Nature, 175, 859 (1955);
10. G. G. Guilbault and E. Hackley, Anal. Chem., 40, 190 (1968).
11. G. G. Guilbault and E. Hackley, Anal. Chem., 40, 1256 (1968).

12. Kunio Yagi, *Biochem. Med.* 15, 212-216 (1976).
13. M. A. Konstantinova-Shlesinger, *Chem. Abstr.* 30, 2521(1936).
14. D. Amos, *Anal. Chem.*, 42, 842(1970).
15. Е. А. Перегуд, Э. М. Стеланенко, *Журиал хим.*, 1960, 15, 96.

第八节 硫的荧光分析

一、概述

含硫化合物，通常有硫化物、硫的氧化物、硫酸根三种形式。在硫的荧光分析中，主要用于检测硫化物的含量，再通过计算求出含硫量。最灵敏和实用的方法是醋酸汞荧光素法，其原理是利用硫离子熄灭试剂的荧光，检测限度可达 10^{-9} 数量级。一些金属与荧光试剂的络合物，本身无荧光，如有硫离子或硫酸根离子存在，则能夺取络合物中的金属离子，释放出荧光试剂，从而建立一种硫化物或硫酸根的荧光分析法。

各种硫的荧光分析法的灵敏度比较，可见下表：

检测方法	检测限度	参考文献
醋酸汞荧光素法	10^{-9} 克/毫升	1—5
钡与8-羟基喹啉-5-磺酸的络合物法	1—5微克/毫升	6
汞离子与2,2'-吡啶基苯并咪唑络合物法	0.0003—0.3微克/毫升	7

续 表

检测方法	检测限度	参考文献
对苯二胺的盐酸溶液及铁离子法	0.1—0.5微克	8
5—氨基荧光素法	0.3—5 微克/毫升	9
硫胺素法	2×10^{-9} 克/毫升	10
N—(9吡啶基)马来酰胺法	1—10微克/毫升	11
2—(苯并噻唑)-2—基苯酚法	$10 - 100 \times 10^{-9}$ 克/毫升	12
N—(4—二甲氨基苯基)-1,4—萘醌亚胺法	15—150 μ M	13
钼—桑色素法	0.1—0.8微克/毫升	14
2,3,7—三羟基—9—邻羟苯基—6—荧光酮法	0.25—2 微克	15
锆—钙黄绿素蓝络合物法	2—12000微克/毫升	16
钼—黄酮醇法	0.02—0.8微克/毫升	17

二、分析方法

1. 醋酸汞荧光素法(1)。

试剂的碱性溶液，在阳光照射下会发出绿色荧光。 $\lambda_{ex}449$ nm, $\lambda_{em}520$ nm. 在加入硫离子以后，荧光强度即行减弱。此法可用以测定微量硫。测定范围为0.0002—0.01微克硫/毫升。此法可用于空气中硫化氢的测定。二氧化硫有干扰，但可用碳酸氢钾浸过的滤纸过滤来加以除去。

空气中硫化物的检测：

荧光试剂的配制：将14克醋酸汞溶解在200毫升醋酸中；将7.53克荧光素二钠溶解在100毫升水中。然后，把醋酸汞溶液加

热至50℃，边搅拌边在其中滴入荧光素溶液。冷却，过滤得到橙色的沉淀，在真空中干燥，即为醋酸汞荧光素。

液体吸收剂方法：让空气以2升/分钟的速度通入盛有10毫升0.1N氢氧化钠溶液的鼓泡器中60分钟，取出鼓泡器内溶液，加水补充使其体积仍为10毫升。加入1毫升 1.0×10^{-6} M试剂溶液，混匀。然后作荧光读数， $\lambda_{ex}499\text{nm}$ ， $\lambda_{em}520\text{nm}$ 。再由工作曲线求出硫含量。

如果被检测的硫化氢浓度较高，可用1N氢氧化钠作吸收剂。在此情况下，可将2毫升 10^{-6} M的荧光试剂加至样品中，混匀，立即加入1N硫酸使溶液碱性小于0.1N，再按上述操作作荧光读数。

在另一种情况下，如果荧光完全被熄灭，即用0.1N氢氧化钠溶液将样品—醋酸汞荧光素溶液稀释成1:10，然后多加一份 10^{-6} M醋酸汞荧光素溶液，再做荧光读数。

固体过滤器方法⁽²⁾：这种方法可检测至万亿分之五的硫化氢，但高浓度的臭氧有干扰。

过滤器的装配：将47nm的滤纸在含2%硝酸银和20%乙醇的0.01M硝酸溶液中浸湿 2 ± 0.5 分钟。在装有硅胶—活性炭干燥器中的玻璃纤维过滤器上，将浸湿滤纸干燥，整个操作过程在暗处进行。在室温下将滤纸转移到多孔塑料盘上，放在干燥器中，于暗处存放。

用一个塑料镊子，将浸透过药物的过滤纸从干燥器中移到一个非金属的容器中。以按皮下注射针头的方式将过滤器安到泵上。以适当的速度，最高达6.6升/分，让空气通过。

在盛有5毫升0.1M氰化钠—0.1N氢氧化钠溶液的玻璃碟中，浸湿滤纸5分钟，然后将滤纸转移到布氏漏斗中，用溶液冲洗到漏出溶液而不是吸滤。用3份（每份3毫升）新鲜的氰化物的碱性溶液洗涤碟子，然后将洗涤液加到滤纸上。再用少量氰化

物的碱性溶液洗滤纸，直到滤液体积总量达20毫升。把洗出液用于吸收。

取9毫升滤液或取1份滤液的氰化物溶液稀释到9毫升，把1毫升 10^{-6} M醋酸汞荧光素加到0.1N氢氧化钠溶液中，然后加入滤液中，作荧光读数。 $\lambda_{ex}499\text{nm}$ ， $\lambda_{em}519\text{nm}$ 。

空气中硫化物的检测(3)：让空气样品以0.2—0.5升/分速度通过两个串联的，盛有0.1N氢氧化钠溶液的起泡器。用四乙酸汞荧光素的溶液与一份吸收剂（约含5—50nM硫化氢）混合，配制浓度为 $0.1\mu\text{M}$ 溶液，作荧光读数。 $\lambda_{ex}360\text{nm}$ ， $\lambda_{em}500\text{nm}$ 以上。若硝酸盐，亚硝酸盐或硫化物含量高于 $3\mu\text{M}$ ，则会引起很小的负误差，若甲硫醇高于30nM，则会引起小的正误差。

天然气中硫化物的检测(4)：将含硫的总量高于0.02ppm的样品，以30毫升/分的速度，通过一个硅—橡胶膜注入以300毫升/分速度流动的氢气流中。让氢气流在一个 70×2.5 厘米石英管中流过，此时石英管的温度为 900°C ，并含有铂金丝起催化作用。将硫化氢吸收在15毫升0.1N氢氧化钠溶液中，约需20分钟。

假若硫含量为0.02—30ppm，则加入1毫升 $5\mu\text{M}$ 的醋酸汞荧光素，并用0.1N氢氧化钠稀释到25毫升，作荧光读数。 $\lambda_{ex}499\text{nm}$ ， $\lambda_{em}519\text{nm}$ 。假若含硫量为0.5—1000ppm，则调试剂浓度到 $50\mu\text{M}$ 。在另一种情况下，测量硫化氢熄灭试剂荧光的程度。

2. 钡与8-羟基喹啉-5-磺酸的络合物法(6)。

钡离子与8-羟基喹啉-5-磺酸钾所组成的络合物的碱性溶液，在紫外光照射下并不发生荧光，但加入硫离子之后，硫离子与钡离子形成硫化钡而释出8-羟基喹啉-5-磺酸，与预先加入溶液中的镁离子组成会发生荧光的络合物。由此，可测定硫离子的含量。此法测定范围为1—5微克硫/毫升。

3. 汞离子与2,2'-吡啶基苯并咪唑络合物法(7)。

汞离子与2,2'-吡啶基苯并咪唑所组成的络合物,其荧光强度远远小于2,2'-吡啶基苯并咪唑。当硫离子与络合物作用而生成难溶的硫化汞时,释出2,2'-吡啶基苯并咪唑,结果使溶液的荧光强度大为增强。试剂的激发峰311nm,荧光峰381nm。此法可用来测定0.0003—0.3微克硫/毫升原试样溶液。100倍于硫离子量的 F^- , Br^- , I^- , $C_2O_4^{2-}$, HPO_3^{2-} , HSO_4^- , CH_3COO^- 等离子没有干扰。 CN^- , SCN^- 离子有较大的干扰。

操作手续:

移取1升试样溶液于锥形瓶中,该瓶配上带有分液漏斗及通气装置的塞子,并与另两个小锥形瓶相连接。在这两个小锥形瓶中分别盛有40及20毫升的汞—2,2'-吡啶基苯并咪唑溶液(由0.8毫升 $10^{-3}M$ 汞离子溶液,5毫升醋酸缓冲溶液,1毫升 $10^{-3}M$ 2,2'-吡啶基苯并咪唑的乙醇溶液,加水稀释至60毫升)。由分液漏斗慢慢滴入20毫升冰醋酸于试样溶液中,并通入氮气1小时,然后把两个小锥形瓶中的溶液合并到100毫升容量瓶中,用水稀释至刻度。最后移取此溶液一部分于液槽中作荧光读数。 $\lambda_{ex}311nm$, $\lambda_{em}381nm$ 。由工作曲线求出硫量。

4. 对苯二胺的盐酸溶液及铁离子法(8)。

气体试样中硫化氢的测定,还可以用浸有醋酸锌的滤纸吸收硫化氢,继用对苯二胺的盐酸溶液及铁离子处理所生成的硫化锌,将其转化为硫堇,这一化合物会发生红色荧光。可用丁醇萃取硫堇,并测其荧光强度。此法的测定范围为0.1—0.5微克硫。

5. 5-氨基荧光素法(9)。

此试剂能和亚硫酸离子发生希夫反应,并作荧光读数。没有大的干扰,遵守比尔定律范围高达 $80\mu m$ 的二氧化硫。

配制 $1.2 \times 10^{-3} \text{M}$ 有色试剂：将5-氨基荧光素溶解在25毫升无水甲醇中，加入4毫升盐酸并稀释到100毫升。

操作方法：

二氧化硫可被 HgCl_4^{2-} 溶液吸收，此吸收液与甲醛作用而生成 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$ ，这种化合物会使5-氨基荧光素的荧光强度减弱。据此可用以测定微量的二氧化硫。亚硫酸根亦可用此法测定。测定时，加入1毫升甲醛于上述吸收液中，混匀，放置5分钟，加入1毫升5-氨基荧光素(最后溶液为 $1 \times 10^{-4} \text{M}$)。放置20分钟，然后在405nm或460nm射线激发下，于515nm测量荧光强度。此法的测定范围为0.3—5微克二氧化硫/毫升。

6. 硫胺素法(10)。

二价硫离子有阻碍氧化剂将硫胺素氧化成为荧光物脱氢硫胺素的作用。这样提供一种检测方法。比尔定律对于20纳克/毫升有效。亚硫酸盐，EDTA，镉、钴，二价汞离子和二价锰离子不产生干扰。等摩尔的铁离子及10倍的铝，亚铁离子或锌也不产生干扰。如果通过蒸馏把硫化物从干扰中分离出来，用浸过碳酸氢钾的滤纸过滤可除掉一起蒸馏出的二氧化硫。

操作方法：

将2毫升PH为7.7的硼酸盐的缓冲溶液与1毫升mM盐酸硫胺素，1毫升 $10 \mu\text{M}$ 高锰酸钾和含0.03—1微克2价硫离子的样品溶液混合。稀释到10毫升并放置10分钟。作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}} 375 \text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}} 440 \text{nm}$ 。

7. N-(9-吡啶基)马来酰胺法(11)。

试剂制备：把9-氨基吡啶和马来酸酐混合放置4小时。然后加多聚磷酸作脱水和环化剂的作用。在 135°C 下加热1小时。分离并且净化无荧光的N-(9-吡啶基)马来酰胺的产品。试

剂能与二硫酚（例如：乙硫醇，巯基丙氨酸，谷胱甘肽）生成荧光络合物。在浓度为0.4—16 μ M时，调节PH值到6，作荧光读数。 $\lambda_{ex}362\text{nm}$ ， $\lambda_{em}426\text{nm}$ 。

8. 2—(苯并噻唑—2-基)苯酚法⁽¹²⁾。

在样品溶液中（相当于0.2—1毫升0.1mM硫化钠溶液）加入0.4毫升1mM硝酸铜溶液，并稀释到50毫升。加1毫升1N氢氧化钠溶液和1毫升1mM 2—(苯并噻唑基)苯酚乙醇溶液。稀释到100毫升，作荧光读数。 $\lambda_{ex}355\text{nm}$ ， $\lambda_{em}439\text{nm}$ 。遵守比尔定律范围为每毫升可含硫化物10—100纳克。氰化物存在干扰。

9. N—(4—二甲氨基苯基)—1, 4—萘醌亚胺法⁽¹³⁾。

试剂与二氧化硫的络合物可作荧光读数。硫代硫酸盐、亚硫酸盐，亚硫酸氢盐和亚硫酸离子及被还原了的谷胱甘肽有干扰。遵守比尔定律范围为15—150nM。

操作方法：

将1毫升的样品溶液与2毫升PH3.6的柠檬酸缓冲溶液混合。加入少量EDTA以阻止金属离子对亚硫酸离子起催化氧化作用。加1毫升0.1mM试剂乙醇溶液并在37°下振动30分钟。加1毫升2N氢氧化钠溶液，作荧光读数。 $\lambda_{ex}340\text{nm}$ ， $\lambda_{em}435\text{nm}$ 。

10. 钼—桑色素法⁽¹⁴⁾。

硫酸根熄灭试剂的荧光。试剂在紫外光照射下会发生亮绿色荧光。此法测定范围：0.1—0.8微克硫酸根/毫升。F⁻，PO₄³⁻，WO₄²⁻，SeO₄²⁻，VO₃⁻，柠檬酸根，As(V)，Fe³⁺，ZrO²⁺，Al³⁺等离子有干扰。

11. 2,3,7—三羟基—9—邻羟苯基—6—荧光酮法⁽¹⁵⁾。

试剂在微酸性溶液中在紫外光照射下会发生黄绿色荧光，但它和钍离子所组成的络合物则不发生荧光。在钍络合物的溶液中如有硫酸根离子存在，硫酸根离子将从钍络合物中夺取钍离子而释出这一试剂，因而导致溶液呈现黄绿色荧光，荧光强度和原来溶液中硫酸根离子的浓度成正比例。此法测定硫酸根的范围为0.25—2微克/毫升。凡能和钍离子组成稳定络合物的离子对此法有干扰。

12. 锆—钙黄绿素蓝络合物法⁽¹⁶⁾。

锆—钙黄绿素蓝的二元络合物在PH1.9的介质中能与微量硫酸根结合，而生成锆—钙黄绿素蓝—硫酸根的三元络合物。在紫外光照射下，此三元络合物所发出的荧光，其强度比二元络合物强。此法检测的范围：2—12,000微克硫酸根/毫升。草酸根，磷酸根，酒石酸根，钨酸根能与锆形成络合物，因此它们的存在能使结果偏低。氟离子存在会使结果偏高，铁与钍对此法也有干扰。

13. 钍—黄酮醇法⁽¹⁷⁾。

钍—黄酮醇络合物的微酸性溶液，在紫外光照射下会发生蓝色荧光。如溶液中有硫酸根离子存在，硫酸根将夺取钍离子而使荧光强度减弱。据此，可用来测定微量硫酸根的含量。方法的测定范围为：0.02—0.8微克/毫升。

参考文献：

1. H. Axelrod, J. Cary, J. Bonelli and J. Lodge, Anal. Chem., 41, 1856 (1969).
2. David F. S. Natusch, Homer B. Klonis, Herman D. Axelrod, Ronald J. Tock and James P. Lodge, Jr. Anal. Chem., 44, 2067

-2070 (1972) .

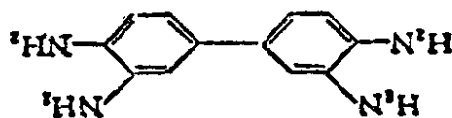
3. Shigeru Tanaka, Yoshikazu Hashimoto and Keigo Nakamura, *Jap. Anal.*, 26, 241-246 (1977)
4. Chu-Chua Chang and The Catalyst Group of the Institute of Chemical Fertilizer Industry of shenai province, *Acta Chim. Sin.* 34, 165-170 (1976) .
5. V. S. Yanysheva, *Zavad, Lab*, 30, 23-24 (1964) ; Cf. Mieczyslaw wronaki, *Z. Anal. Chem.*, 180, 185-188 (1961) ; *Mikrochim. Acta*, 1970, 955-959.
6. J.S.Hanker, A.Gelbery, B.Witten, *Anal. Chem.*, 30, 93 (1958) .
7. L.S.Bark, A.Rixon, *Analyst*, 95, 786 (1970) .
8. C.A.Parker, W. J. Barnes, from J.P.Cali, *Trace Analysis of Semiconductor Mater—*ials, p.243, Pergamon, Oxford, 1964.
9. H.D.Axelrod, J. E.Bonelli, J.P.Lodge, *Anal.Chem.*, 42, 512 (1970) .
10. J. Holzbecher and D.E.Ryan, *Anal. Chim. Acta*, 68, 458-461 (1974) .
11. Yasunori Nara and Katura Tuzimura, *Jap. Anal*, 22, 451-452 (1973) ; *Agric, Biol. Chem.*, 42, 793-798 (1978) .
12. F. Vernon and P. Whitham, *Anal. Chim. Acta*, 59, 155-156 (1972) .

13. Hiroshi Nakamura and Kenzo Tamura,
Chem. Pharm. Bull., Tokyo 22, 1950-1952
(1974).
14. J. C. Guyon, E. J. Loran, Anal. Chem,
38, 155 (1966).
15. В.А.Назаренко, МБ, Щустова, Зав, Лаб.,
1958, 24, 1344.
16. Lay Har Tan, T.S. West, Analyst, 96, 281 (1971).
17. 那须椒子, 北川隆允, 森多贺子, 分析化学, 19, 673
(1970).

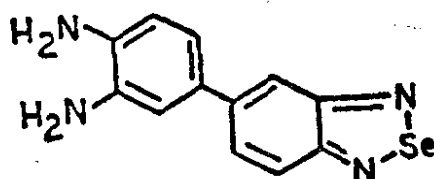
第九节 硒的荧光分析

1. 3,3'-二氨基联苯胺法⁽¹⁾⁽²⁾.

试剂结构:

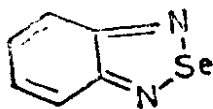


它与亚硒酸在微酸性介质中, 生成化合物, 其结构如下:

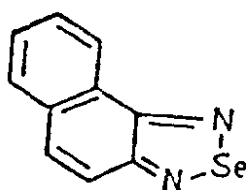


其甲苯溶液, 在阳光照射下会发生荧光, $\lambda_{ex}436\text{nm}$, $\lambda_{em}580\text{nm}$. 可用来测定微量硒, 测定范围为0.02—0.2微克硒/毫升. 为了消除其它元素的干扰, 须加入EDTA掩蔽剂, 并用甲苯萃取硒—3,3'-二氨基联苯胺化合物.

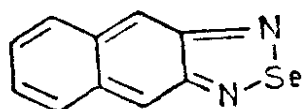
硒与其它的一些二胺也能形成类似的化合物，如邻苯二胺，它生成3,4-苯并-1,2,5-硒基二唑，结构为：



1,2-二氨基萘，它生成3,4-苯并萘硒脑，结构为：



2,3-二氨基萘，它生成4,5-苯并萘硒脑，结构为：



上述四种衍生物的荧光特性，列于下表中：

各种萘硒脑衍生物的荧光特性^a

衍生物	溶 剂	激发峰(nm)	荧光峰(nm)	相对荧光强度 ^b
(1) ^a	甲 苯	436	600	5
(2) ^a	环己烷	313	/	极低
(3) ^a	环己烷	366	400	0.2
(4) ^b	环己烷	366	520和580	123
(4) ^b	萘 烷	366	520和580	100

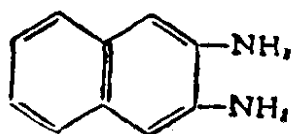
a. C.A. Parker and L.G Harvey, *Analyst*, 87, 558, (1962).

b. 以4,5-苯并萘硒脑在萘烷中的荧光强度为100。激发和

荧光光谱均在校正过的仪器上测得。

- c. 3',4'-二氨基苯基苯硒脑。
 - d. 3,4-苯并-1,2,5-硒基二唑。
 - e. 3,4-苯并苯硒脑。
 - f. 4,5-苯并苯硒脑。
2. 2,3-二氨基萘法(3,4,5,6)。

试剂结构：



它与硒(VI)生成的化合物〔上法(4)〕，在紫外光照射下会发生黄色荧光。其反应式为：



此法可用于测定微量的硒。方法的灵敏度与测定范围视所用的萃取剂的性质而定。如用萘烷从0.1N盐酸中萃取硒—2,3-二氨基萘化合物， $\lambda_{ex}366\text{nm}$ ， $\lambda_{em}520\text{nm}$ 和 560nm 。测定范围为0.0004—0.006微克硒/毫升。在同样条件下，如改用环己烷萃取，其激发峰和荧光峰不变，而测定范围为0.003—0.033微克硒/毫升。为了消除干扰，在萃取前须加入EDTA为掩蔽剂。

操作手续：

称取0.5克生铁试样于烧杯中，加入15毫升硝酸—过氯酸混合液（26毫升硝酸和48毫升过氯酸加入26毫升水），完全溶解以后，加入过量的2.5%（W/V）高锰酸钠溶液，将溶液煮沸两分钟，并逐滴加入5%亚硝酸钠溶液以还原剩余的高价锰，蒸发至冒烟，继续加热5分钟，缓缓冷却，加入10毫升盐酸（比重1.16

—1.18), 加热至沸, 停止加热, 加入15毫升水, 用纸浆垫层过滤溶液, 用水洗涤垫层, 冷却, 转移至100毫升容量瓶中, 稀释至刻度。

移取上述溶液2毫升(若硒含量在0.1%以上则取1毫升), 于150毫升矮形烧杯中, 加入45毫升0.1N盐酸和少许碱式氯化铵, 加热至沸, 若溶液有色, 则再加少许碱或氯化铵, 停止加热, 加入1.0毫升0.1MEDTA二钠盐溶液和2.0毫升0.2%, 2, 3—二氨基萘溶液, 盖上表玻璃, 在暗处通风柜内沸水浴上加热30分钟。取出用水冷却, 转移到150毫升分液漏斗中, 加入10毫升环己烷, 摇荡1分钟。分离水相后, 再用环己烷萃取一次, 合并环己烷萃取液。然后在365nm射线激发下, 于520nm处测量荧光强度, 再由工作曲线求出硒含量。

对于矿物中硒的检测, 可将样品与碳酸钠、氯化钠和氯酸钠一起熔融, 将有机物氧化。如: 硫和硫化物。把熔融物溶解在硝酸和硫酸中, 用4N的氨水和0.1%的2, 3—二氨基萘调节PH值到1.1, 用环己烷萃取络合物。作荧光读数。 $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}525nm$ 。

用2, 3—二氨基萘可以检测牛奶、蛋、乳酪、肉、蔬菜和谷类中的硒, 检测灵敏度为0.003—0.6ppm。用重结晶的EDTA二钠盐作掩蔽剂, 用再蒸馏环己烷作萃取剂, 可提高测定的重现性和灵敏性。有人提议, 为了分解检测样品, 可加入混有高氯酸的过氧化氢。

对于在鱼组织中所含的0.1—0.5微克硒的测定: 首先取1克样品用硝酸氧化, 然后用高氯酸和硫酸完全氧化。稀释, 加入EDTA, 掩蔽铜和铁离子。再加入盐酸羟胺以防止试剂氧化和硝酸的痕量分解。最后加入0.1%2, 3—二氨基萘的5N硫酸溶液, 用环己烷萃取, 作荧光读数。 $\lambda_{ex}360nm$, $\lambda_{em}520nm$ 。

用硝酸—过氧化氢—高氯酸提取的方法可检测干草、菜、大

麦中的硒，检测限度可达5 ppb。并且在 λ_{ex} 为366nm时，可读出试剂与硒生成的络合物的绿色荧光。

对于有机物的废料中硒的检测：可先将其灰化，然后将残渣放入水中。用10：1的硝酸—高氯酸萃取残渣中的硒。过滤，再用10：1硝酸—高氯酸萃取滤液。滤液除去水，用3，4—二巯基甲苯的锌盐与硒络合而从滤液中分离出来。稀释，用2,3—二氨基萘显色，使荧光读数。 λ_{ex} 370nm, λ_{em} 517nm。

一般操作方法(7)：

将含硒量为0.005-0.025微克样品的0.1N盐酸溶液，用0.1N的盐酸稀释至45毫升，并加热到50℃。加5毫升0.1%的2,3—二氨基萘的0.1N盐酸溶液并在50℃保温20分钟。冷却，用5毫升十氢化萘萃取。用0.1N盐酸分两次洗涤有机层，每次25毫升。分离，作荧光读数。 λ_{ex} 366nm, λ_{em} 522nm。

荧光法中干扰的除去方法：

经离子交换以后，对于一个含硒量高达1微克的样品溶液，正如前面一段讲的那样，加0.5毫升0.1M的EDTA，加0.5毫升0.1MNaF溶液以及加5毫升0.1%2,3—二氨基萘的0.1N的盐酸溶液。调节PH值至2并且放置2小时。用10毫升甲苯萃取之。作有机层的荧光读数。 λ_{ex} 390nm, λ_{em} 590nm。校正相对的本底读数为0.016微克/毫升。

铜中硒的检测：溶解0.5克铜于5毫升12N的硝酸中。加热蒸发掉氮的氧化物，加25毫升的水，再加热煮沸。冷却并用10%的氢氧化钠溶液调节溶液的PH值至1—1.5。以每分钟0.5毫升的速度通过装有50—100目Dowex50w-x8树脂的层析柱，收集滤液至35毫升。

洗层析柱，连续洗四遍，每遍用20毫升水。然后向含硒量达1微克的一分试样中加0.5毫升0.1M的EDTA，0.5毫升0.1M的氟化钠溶液以及5毫升0.1%2,3—二氨基萘的0.1N盐酸溶液。

调节PH值到2并且放置2小时。用10毫升甲苯萃取。对有机层作荧光读数。 $\lambda_{ex}390nm$, $\lambda_{em}590nm$ 。用本底读数校正。

硫酸中硒的检测：用水稀释0.2毫升并用35%氢氧化钠溶液调节PH值至2。当存在干扰时要按照荧光的分析步骤操作。

三氯化砷中硒的检测⁽⁸⁾：将1—10克样品（此样品中含0.02—1毫克硒）溶解于2：1的硝酸—过氯酸中，每克样品加2毫升的酸溶解。蒸去高氯酸烟雾，用10毫升水吸收。用氨水调节溶液PH值至1并且稀释到20毫升。加入3毫升0.1%2,3—二氨基萘的0.1N的盐酸溶液并在100℃加热5分钟。冷却，用6毫升的环己烷萃取，并过滤有机层，作荧光读数。 $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}519nm$ 。

硫化物矿石中硒的检测⁽⁹⁾：这个工艺适合于铜矿、铁矿、镍矿、铅矿和锌矿。配制掩蔽剂：用2.5克的盐酸羟胺水溶液溶解14.89克的EDTA二钠盐并稀释至1升。配制螯合剂：将1克2,3—二氨基萘和5克盐酸羟胺溶解在1升1N盐酸中。在50℃加热20分钟，然后冷却。连续用环己烷萃取四次，每次10毫升，将螯合剂提纯。

在5毫升7：3硝酸—过氯酸中加入0.01克样品，温热使其溶解。加热至过氯酸冒浓烟以蒸去硝酸。冷却，加入2毫升30%过氧化氢，再加热至过氯酸冒烟。继续加热并加入2毫升1：1盐酸，它使硒还原成四价且除去硝酸残余。冷却后加入5毫升甲酸使溶液PH缓冲至2。加入4滴0.02%指示剂溶液和2毫升掩蔽剂。逐滴加入7N氨水直至指示剂变成黄色。然后加入事先配好的0.1%螯合剂溶液2毫升，在50℃加热30分钟。在冰水浴中冷却，用10毫升环己烷萃取1分钟。将有机层作荧光读数。 $\lambda_{ex}340nm$, $\lambda_{em}590nm$ 。

沉积物中硒的检测⁽¹⁰⁾：配制一种还原剂：按3：1比例混合盐酸—50%的亚磷酸。为了除去痕量的硒，在50毫升水中加

0.0315克的氧化砷和10片氢氧化钠。加热煮沸5分钟，并过滤。

向4 : 1的硝酸—高氯酸中加入1克的样品，并且在沸点加热煮沸90分钟。冷却后，加1 : 1盐酸10毫升，再煮。冷却，并通过玻璃棉过滤。连续用10毫升和5毫升1 : 1的盐酸洗涤这个容器。然后加20毫升的盐酸，5毫升准备好的还原剂及10毫升50%的次磷酸。加热到沉淀完全析出，并在玻璃棉上过滤这个砷和硒的共沉淀，将沉淀转移到烧杯中。再用2毫升硝酸及水洗涤一下过滤坩埚。将滤液加热煮沸2分钟，冷却。加2.5毫升的甲酸和1毫升0.5MEDTA。稀释到40毫升，加5毫升0.1%2,3一二氨基萘溶液的0.1N盐酸溶液，并在暗处放置90分钟。用10毫升的环己烷萃取，用15毫升0.1N盐酸洗涤有机层，通过棉花过滤。作荧光读数。 $\lambda_{ex}366$, $\lambda_{em}530$ 。

水中硒的检测⁽¹¹⁾：通过 $3\mu m \times 0.3\mu m$ 过滤膜连续过滤2升水。加入30毫克氯化亚铁，并调PH至5。放置2个小时后过滤。四价硒在沉淀中，六价硒在滤液中。然后分别检测。

①四价硒⁽¹²⁾：将上述含四价硒的沉淀溶解在2毫升的盐酸中并稀释到25毫升。取一份试样和1M乙酸混合，再用饱和的醋酸钠溶液调节PH到5。用1M的癸酸三氯甲烷溶液萃取，将萃取液蒸发到干以后溶解在5毫升的盐酸中。加3毫升1M醋酸钠溶液，调PH值至1。稀释到25毫升。如果有残余铁存在就通过一个 5×3 厘米的(Dowex50w-x8)磺化聚苯乙烯氢形阳离子交换树脂柱，加以除去。加5毫升0.1%的2,3一二氨基萘溶液，0.5毫升0.1MEDTA及0.5毫升0.1M氟化钠溶液。在 $50^{\circ}C$ 加热20分钟，冷却，并用10毫升环己烷萃取。将这萃取物离心，然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}375nm$, $\lambda_{em}520nm$ 。

②六价硒⁽¹³⁾：将10毫克的四价砷加到滤液中，然后加20毫克的硫酸胂。加热到 $90^{\circ}C$ ，直到不稳定的砷同硒一起沉淀。过滤，然后用高氯酸及硝酸溶解沉淀，再蒸发至干。将残余物溶解

在5毫升热的1:1的盐酸中。然后按上节介绍的方法操作:“加3毫升1M醋酸钠……”。

也可以这样操作:将50毫升样品溶液与2毫升30%过氧化氢慢慢煮沸混合10分钟,加入25毫升盐酸并煮沸5分钟。稀释至75毫升,加入20毫升氨水,冷却。加入5毫升1.5%EDTA二钠盐的0.5%盐酸羟胺溶液作掩蔽剂。用稀氨水调节PH至 1.8 ± 0.2 。加入5毫升0.1%2,3-二氨基萘溶液,在暗处放置5小时。用10毫升环己烷萃取1分钟,将有机层离心后作荧光读数。 $\lambda_{ex}389\text{nm}$, $\lambda_{em}521\text{nm}$ 。可检测0.2—1微克硒。

海水中硒的检测⁽¹⁴⁾:将50毫升盐酸和20毫克三氯化铁加到5升海水样品中,样品中的含硒量是0.01—0.7微克/升。用氨水调节PH至5.5。放置几个小时,然后再加多于5毫克的三氯化铁,用氨水调PH到5.5。两三个小时以后,再做另外一份相似的样品并放置过夜。过滤,洗涤沉淀,然后将沉淀溶解在5毫升1:1的盐酸中。加3毫升1M醋酸钠,调节PH到1,并稀释到30毫升。通过一个 5×3 厘米(Dowex50w-x8)磺化聚苯乙烯氢形阳离子交换树脂柱以分离出硒。用盐酸调节10毫升0.1M醋酸钠溶液至PH等于1。用此调好的溶液洗提硒。加5毫升0.1%的2,3-二氨基萘溶液,0.5毫升0.1MEDTA及0.5毫升0.1M氟化钠溶液。用稀氨水或稀盐酸调节PH至1,然后稀释到25毫升,在 50°C 加热20分钟。冷却,用10毫升的环己烷萃取,并分离有机层。作荧光读数。 $\lambda_{ex}375\text{nm}$, $\lambda_{em}520\text{nm}$ 。荧光参考标准采用0.0625微克/毫升的荧光素钠。

牛奶中硒的检测⁽¹⁵⁾:将样品离心以除去脂肪,然后冷冻干燥。把2克的粉压成片状,然后打碎成四份。取出一份即 $1/4$ 放进坩埚中,再加入2克的碳酸钠,控制氧化速度,在火焰顶部燃烧熔融。把8克的过氧化钠盖在熔融的碳酸钠顶部。密封,点燃,冷却,再用温水萃取有效成分。在过氧化钠分解完后,逐

滴加入25毫升盐酸。然后加10毫升50%的次磷酸溶液，使过氧化氢还原。加5毫升含0.125%氧化砷的氢氧化钠溶液，煮5分钟不断搅拌直到砷和硒以一种黑色的沉淀分离出来。放置过夜后，在烧结玻璃上过滤并洗涤。将沉淀溶解在7毫升1:1的硝酸中并冷却。加10毫升盐酸再稀释到50毫升。加入5毫升1:1甲酸和一种稳定溶液即10毫升0.025M EDTA二钠盐一起溶解在2.5毫升的盐酸羟胺溶液中。用氨水中和至 $\text{PH} = 2$ 。加入5毫升0.1%的2, 3-二氨基萘的0.1N的盐酸溶液（含0.5%盐酸羟胺）并放置2小时。稀释到200毫升，用10毫升的十氢化萘萃取10分钟。用100毫升0.1N盐酸洗涤有机层，并离心。作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}320\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}522\text{nm}$ 。

废水中硒的检测：(16)把10毫升样品，10毫升0.2N盐酸和3毫升0.1M溴—0.1M溴化物混合。在50℃放置30分钟，加入5毫升0.1%的2, 3-二氨基萘的0.2N盐酸溶液。保持在50℃30分钟，然后冷却之。用环己烷萃取2次，每次用5毫升。再用0.2N盐酸洗涤萃取液2次，每次用25毫升。用环己烷将萃取液稀释到25毫升。作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}366\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}522\text{nm}$ 。

有机物中硒的检测：

①氧化酸煮解法(17)：把在40℃下烘干的1克植物样品或1毫升血放进一个8×1英寸的试管中，再加上5毫升硝酸。加一个空气冷凝器并且放置1小时。慢慢加热。然后加强热直到硝酸冷凝在空气冷凝器下面3英寸处。当这剧烈的反应停止后，加2毫升高氯酸回流。撤下冷凝器，煮沸除去高氯酸，再强烈煮沸15分钟。冷却，加2毫升水。在溶液上方约0.5英寸处安装一个真空管，在100℃加热0.5小时，除去蒸气。移开这个连结真空管的试管，加入2毫升1:9的盐酸，继续加热5分钟，冷却。

加2毫升0.04MEDTA二铵盐，1滴0.02%甲酚红溶液及7N氨水调至 PH 等于1，用指示剂显示。用0.1N盐酸稀释到50毫

升，再加5毫升0.1%的2,3-二氨基萘溶液。混匀，放置在50℃的黑暗处20分钟，冷却，并用10毫升的环己烷萃取1分钟。用0.1N的盐酸洗涤有机层两次，每次用25毫升，离心到澄清，做荧光读数。 $\lambda_{ex}390\text{nm}$ ， $\lambda_{em}590\text{nm}$ 。此技术已用于自动化荧光检测动物血的硒，检测灵敏度为10ppb。

②氧燃烧法⁽¹⁸⁾：把植物材料压缩成1克的圆片。取一片放在具有过滤纸芯的铂网容器中。在滤纸上干燥1毫升血浆并同样处理。用25毫升0.3M高氯酸作为吸收剂放在长颈瓶中。燃烧，转移出此吸收溶液及熔融的残渣，加2毫升2:1的高氯酸及几滴硝酸。蒸去高氯酸烟雾。继续煮沸5分钟，冷却和稀释。至此，氧化酸煮解完成。再按上一节操作方法操作：“加入2毫升0.04M EDTA二铵盐……”或者，燃烧1克的细微的土样干燥的生物物质，收集燃烧物，放进0.5N的盐酸中。用砷作载体共沉淀硒，溶解在硝酸中，并用2,3-二氨基萘显色，做荧光读数。 $\lambda_{ex}375\text{nm}$ ， $\lambda_{em}530\text{nm}$ 。

③猪肉或牛肉组织中硒的检测⁽¹⁹⁾：取一具有代表性的组织样品，与高氯酸—硝酸一起，在130—140℃回流5小时。蒸去酸，蒸去高氯酸烟雾，并继续加热至样品液剩下3毫升。加10毫升水并蒸馏到2毫升，以最后除去痕量的硝酸。稀释到40毫升，加2.5毫升1:9的盐酸，并在80℃加热20分钟。用1:9的氨水调PH到1.5。加入2毫升1%盐酸羟胺溶液和2毫升0.1%2,3-二氨基萘的1:9盐酸溶液。再在80℃加热20分钟。放暗处冷却，然后用10毫升环己烷萃取。将萃取液做荧光读数。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$ ， $\lambda_{em}520\text{nm}$ 。

④肌肉、肝脏、血或动物食物中硒的检测⁽²⁰⁾：

制备煮解试剂：溶解10克的钼酸钠的二水合物于300毫升1:1的硫酸中，并加200毫升的高氯酸。

制备亚砷钠溶液：溶解0.315克氧化砷与1.5克氢氧化钠于水

中并稀释到50毫升。

制备还原溶液：将150毫升盐酸，50毫升水，50毫升50%次磷酸混均。

制备稳定溶液：将29.2克EDTA和100克的氯化铵溶解在水中，并稀释到1升。

制备有色试剂：将0.1克2, 3-二氨基萘溶解在100毫升含0.5克盐酸羟胺的0.1N盐酸中。如需要的话，用十氢化萘预提取2次，每次20毫升，以除去杂质。

将含硒量低于2微克的样品与10毫升蒸煮液一起加热至亮黄绿色。加1毫升亚砷酸钠溶液和25毫升还原溶液。慢慢煮沸5分钟，冷却，弃去上层清液。分别用5N盐酸及水洗沉淀，再过滤。用3毫升的硝酸溶解沉淀。然后用8N盐酸洗沉淀2次，每次2毫升。随后用水洗2次，每次5毫升。将滤液煮沸除去氮的氧化物，并冷却。加2.5毫升5N盐酸，5毫升1:1甲酸和2.5毫升稳定剂。用1:2氨水调PH等于2，加入5毫升有色试剂。稀释至75毫升，于50℃放置45分钟。再稀释至125毫升，然后用10毫升十氢化萘萃取，用50毫升0.1N盐酸清洗有机相，作荧光检测。 $\lambda_{ex}365nm$, $\lambda_{em}520nm$ 。

植物中硒的检测⁽²¹⁾：

①多于4 ppm的硒。

试剂的配制：把20毫升水加到1.9克EDTA中。然后慢慢地加5N的盐酸羟胺直到1.9克的EDTA正好溶解。另外将6克盐酸羟胺溶解在100毫升水中。将上述两种溶液合并，用水稀释到250毫升。

用剪子、刀子或在食物切碎机里切碎新鲜的材料，将其风干、研碎，通过18号筛子。将1克材料（硒的含量不能超过0.4微克）转移至微型长颈烧瓶中。加10毫升硝酸放置一边，但不要超过4小时。连结一个空气冷凝器并慢慢加热15分钟。然后加热直

到硝酸冷凝在此冷凝器下面部分。再加热10分钟以上，冷却一会儿。加2毫升高氯酸然后回流15分钟，去掉空气冷凝器。蒸去高氯酸烟雾，加热15分钟。冷却，加1毫升水，加热2分钟以上，蒸去高氯酸烟雾。冷却后再加1毫升水，然后加1毫升1:4盐酸。在100℃加热30分钟后冷却。

加0.05克2,3-二氨基萘到50毫升0.1N盐酸中。在50℃加热15分钟。冷却，用十氢化萘萃取两次，然后弃去萃取液。通过用水饱和的滤纸过滤。取此溶液5毫升，加至样品溶液中，用0.1N盐酸稀释到25毫升。在50℃放置25分钟。冷却到室温，用10毫升十氢化萘萃取，用0.1N盐酸洗有机层2次，每次25毫升，然后离心，在5分钟之内作荧光读数。 $\lambda_{ex}365nm$, $\lambda_{em}525nm$ 。

②少于4 ppm的硒(22)。

象上一节所说的方法那样进行操作，直到样品溶液已经酸化。然后在100℃加热30分钟，冷却。稀释到一个已知量，取一份约含有0.3微克硒的试样，象前面那样显色。

此技术适用于烟草中硒的检测。

另一种方法，为了分散泡沫，用4毫升3:1硝酸—高氯酸及1滴煤油来煮解0.5克的样品，在40—50℃煮解1小时。然后在70℃加热6小时，在125℃加热过夜。冷却，稀释，过滤，把滤液稀释到20毫升。加入3毫升25%的羟胺溶液其中含9.306%的EDTA二钠盐。用氨水和1:1盐酸在黑暗处调PH等于1.5，加入2毫升0.1%2,3-二氨基萘的1.2N盐酸溶液并加热到煮沸。在暗处放置2小时。用6毫升己烷萃取，在 $\lambda_{ex}365nm$ 激发下作荧光读数。第一次滤液， $\lambda_{em}525nm$ ；第二次滤液， $\lambda_{em}520nm$ 。

当所用食物用硝酸—高氯酸—硫酸煮解时，在煮解快结束时必须加更多的硫酸，以除去其它酸。用过氧化氢还原六价硒。用此煮解物时必须在60℃加热1小时，以保证络合完全。

食物中硒的检测⁽²³⁾：配制有色试剂：将1毫克2,3-二氨基萘粉末放进150毫升5 N硫酸中，振摇15分钟，使之溶解。用环己烷萃取3次，每次50毫升。萃取后，丢弃萃取液。将样品（其样品含固体物不超过1克，含硒量少于8微克）煮解过夜。然后蒸剩5毫升。冷却，加入6毫升高氯酸与5毫升硫酸并加热到无色。炭化可以使硒的含量减少，在这种情况下，要提高酸与样品比例，重复上面步骤。蒸去三氧化硫烟雾。加1毫升30%的过氧化氢，振荡，再一次加热蒸去三氧化硫。再加1毫升30%过氧化氢并且再次加热5分钟蒸去三氧化硫蒸气。冷却，然后依次加10毫升0.02M EDTA二钠盐，25毫升6 N氨水以及5毫升有色试剂。煮沸2分钟。放置1—2小时。加6毫升环己烷，萃取5分钟，离心出有机层，作荧光读数。 $\lambda_{ex}366\text{nm}$, $\lambda_{em}525\text{nm}$.

参考文献：

1. J.H. Watkinson, *Anal. Chem.*, 32, 981 (1960);
C.A. Parker, L.G. Harvey, *Analyst*, 86, 54
(1961).
2. W.B. Dye, E. Bretthauer, H. J. Seim, C. Blincoe, *Anal. Chem.*, 35, 1687 (1963).
3. W.E. Clarke, *Analyst*, 95, 65 (1970).
4. W.H. Allaway and E.E. Cary, *Anal. Chem.*,
36, 1359 (1964).
5. J.B. Wilkie and M. Young, *J. Agr. Food. Chem.*, 18, 946 (1970).
6. O. Olson, *J. AOAC.*, 52, 627 (1969).
7. C. A. Parker and L. G. Harvey, *Analyst*,
87, 558-565 (1962).

8. B. D. Luft, I. I. Nazarenko, L. B. Khusid and V. V. Shemet, *Zavod, Lab*, 37, 1047—1048 (1971)
9. Shawky Michael and C. L. White, *Anal. Chem.*, 48, 1484-1486 (1976).
10. James H. Wiersma and G. Fred Lee, *Environ. Sci. Technol.* S, 1203-1206 (1971); Cf. W. R. T. Hemsted, M. Sina and S. Cekicer, *Analyst*, 97, 383-387 (1972).
11. Osamu Yoshii, Keizo Kiraki, Yasuharu Nishikawa and Tsunenobu Shigematsu, *Jap. Anal.*, 26, 91—96 (1977);
12. Keizo Hiraki, Osamu Yoshii, Hiroshi Hirayama, Yasuharu Nishikawa and Tsunenobu Shigematsu, *Jap. Anal.* 22, 712-718 (1973).
13. John M. Rankin, *Environ. Sci. Technol.* 7, 832-824 (1973).
14. Cf. Yukio Sugimura and Yoshimi Suzuki, *Nippon Kaiyo Gokkai-shi*, 33, 23-29 (1977),
15. F. Kiermeier and W. Wigand, *Z. Lebensmittelunters. Forsch.*, 136, 158-166 (1968).
16. James A. Raihle, *Environ. Sci. Technol.* 6, 621-622 (1972).
17. J. H. Watkinson, *Anal. Chem.*, 38, 92-97 (1966).
18. W. H. Allaway and E. E. Cary, *Anal. Chem.*, 36, 1359—1362 (1964).

19. Ruth stabel-Taucher, Finn, Chem.Lett., 1977, (2) 57-60.
20. R.C.Ewan, C.A.Baumann. and A.L.Pope, J. Agric.Food Chem., 16, 212-215 (1968).
21. Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemists, 12thed. 45—46 (1975);
22. Oriew. Leisure and Oscar E. Olson, J. Assoc.Off.Anal.Chem., 57, 658—661 (1974).
23. Milan Ihant, J.Assoc.Off.Anal.Chem, 57 368-373 (1974); I. Hoffman, ibid, 51, 1039—1042 (1968).

第十节 卤离子的荧光分析

一、氟离子的荧光分析法

1. 铝—酸性紫酱红络物法⁽¹⁾。

氟离子与铝离子生成的络合物，比试剂稳定，因此氟离子能夺取试剂中的铝离子，从而熄灭试剂的荧光。此法能检测 1 ppb 氟离子。铍、钴、铬、铜、铁、镍、钍、镨和磷酸根有干扰。

2. 铝—桑色素络合物法⁽²⁾。

氟离子能熄灭试剂的荧光，原理同上法。 $\lambda_{ex}365\text{nm}$ ， $\lambda_{em}500\text{nm}$ 。能检测低于 0.2ppm。

3. 镁—8—羟基喹啉络合物法⁽³⁾。

原理同上。

4. 锆(IV) — 钙黄绿素蓝法⁽⁴⁾。

氟离子能与试剂在PH2.5时生成三元络合物，其组成为1 : 1 : 1，结果使荧光强度增强。测定时，先加入钙黄绿素试剂溶液，后加入锆离子溶液于试样溶液中，才能得到正确的结果。 $\lambda_{ex}350nm$ ， $\lambda_{em}410nm$ 。硫酸盐的存在会使结果偏高，钨酸盐、醋酸盐、酒石酸盐、磷酸盐、草酸盐的存在会使结果偏低。此法测定范围0.9—6.0微克/100毫升。

操作方法：

配制 $10^{-3}M$ 钙黄绿素蓝试剂：将0.1602克钙黄绿素蓝溶解在几滴0.1N氢氧化钾溶液中，然后稀释到100毫升。从其中取出10毫升整，再稀释到100毫升即为 $10^{-4}M$ 的钙黄绿素蓝溶液。

配制 $10^{-3}M$ 氯化锆溶液：溶解32.2毫克氯化锆于100毫升3N的盐酸中。从中取出10毫升整，然后用3N的盐酸稀释到100毫升，即为 $10^{-4}M$ 的氯化锆溶液。

往一份含1—6微克氟化物的样品中加入2毫升 $10^{-4}M$ 钙黄绿素蓝溶液，用3—4毫升1.5N氨水调节溶液PH值到2.5，再加2毫升 $10^{-4}M$ 锆试剂。最后将这混合物稀释到100毫升。放置约30分钟，作荧光读数。 $\lambda_{ex}350nm$ ， $\lambda_{em}410nm$ 。

5. 锆—3—羟基黄酮络合物法⁽⁵⁾。

原理同1法。氟离子在460nm熄灭锆—3—羟基黄酮络合物的荧光。测定范围为0.1—10ppm。铝离子、钼酸根、柠檬酸根、酒石酸根和草酸根有干扰。

操作方法：

将含有高达10微克氟化物的样品溶液与1毫升70微克/毫升的3—羟基黄酮乙醇溶液以及1毫升含锆量是20微克/毫升氯化锆溶液混合，然后稀释到100毫升，作荧光读数。 $\lambda_{em}460nm$ 。

二、氯离子的荧光分析法

1. 硝酸铈酰法⁽⁶⁾。

氯离子能熄灭试剂的荧光，从而建立荧光测定氯离子的方法。

2. 荧光素法⁽⁷⁾。

当氯离子与银离子结成氯化银时，将吸附溶液中荧光素而使荧光素溶液的荧光熄灭。根据荧光强度降低的程度，可以测定微量的氯离子。此法的测定范围为0.002—0.5微克氯离子/毫升。曾用于高纯水中微量氯离子的测定。

操作方法：

水中氯化物的检测：在50毫升样品中，加入5滴25 μ M荧光素钠溶液，再加入2滴1 mM的硝酸银，作荧光读数。然后，在254nm处激发10分钟，再荧光读数。对于每毫升含10—50微克的氯化物，此熄灭作用可再生5%。

三、溴离子的荧光分析法

1. 荧光素法⁽⁸⁾。

在冰醋酸介质中，溴离子熄灭荧光素的荧光 ($\lambda_{ex}440nm$, $\lambda_{em}470nm$)。根据荧光素荧光强度降低的程度，可以测定微量的溴离子。荧光素浓度为 $1 \times 10^{-6}M$ 。此法可测至0.002微克溴/毫升。大量氯离子的存在对此法无干扰。曾用于气溶胶中溴的测定。

另用过硫酸铵在硫酸溶液中将溴离子氧化为溴，然后抽气使溴通过一小块用荧光素乙醇溶液浸过并已晾干的纸片，荧光素和溴作用而形成曙红的红色斑点，由斑点色泽的深浅来测定溴的含量。如将该纸片在紫外光下观察，曙红斑点将呈现深棕色，而周围荧光素则呈现金黄色，方法的灵敏度可提高约4倍⁽⁹⁾。

2. 硝酸铀酰法⁽¹⁰⁾。

溴离子能熄灭试剂的荧光，从而建立荧光测定溴离子的方法。

四、碘离子的荧光分析法

1. 2',7'-双醋酸汞荧光素法⁽¹¹⁾。

试剂的微碱性溶液，在阳光照射下会发生荧光，它的荧光强度随着溶液中碘离子浓度增大而增强。据此，可用来测定微量的碘离子。测定时加入PH8.3的硼酸缓冲液以调节溶液的酸度，并调节2,7'-双醋酸汞荧光素试剂的浓度为 $2.4 \times 10^{-6}M$ 。此法测定范围为0.04—0.4微克碘/毫升。CN⁻离子与巯基醋酸对此法有干扰。

2. 荧光熄灭法。

碘离子能熄灭鲁米那⁽¹²⁾的荧光，此法可检测至1.0ppm。碘离子还能熄灭 α -萘黄酮⁽¹³⁾，硝酸铀酰⁽¹⁴⁾的荧光，方法灵敏度均为1.0ppm。

参考文献：

1. W. Powell and J. Saylor, Anal. Chem., 25, 960 (1953).
2. H. Willard and C. Horton, Anal. Chem., 24, 862 (1952).
3. S. W. Chaikin, Res. Ind., 5, No. 3 (1953).
4. T. L. Har, T. S. West, Anal. Chem., 43, 136 (1971).
5. J. C. Guyon, B. E. Jones and D. A. Britton, Mikrochim. Acta, 1180 (1968).
6. V. Volman, Bull. Soc. Chim., 53, 385 (1933).

7. A.D.Karyakin and G.G.BaBickeva, *Ih. Anal. Khim.*, 23, 789—791 (1968).
8. H.D.Avelrod, J.E.Bonelli, J.P.Lodge, *Environ.Sci.Technol.*, 5, 420 (1971); *CA*, 74, 130089 (1971).
9. J.Grant, *Analyst*, 61, 400 (1936);
W.M.Seaber, *Analyst*, 61, 14 (1936).
10. V.Volman, *Bull.Soc.Chim.*, 53, 385(1933).
11. G. Colovos, M.Haro, H.Freiser, *Talanta*, 17, 273 (1970).
12. A.Ponomarenk., oN.Markar'yan and A. Komlev, *Dokl. Akad. Nauk.SSSR*, 86, 115 (1952).
13. H.Goto, *Chem.zb.*, 1, 1608 (1941).
14. V.Volman, *Bull.Soc.Chim.*, 53, 385 (1933).

有机化合物的荧光分析法

第六章 有机化合物的荧光 分析法概述

第一节 有机化合物的荧光

有几千种有机化合物已能用荧光分析至低于1 ppm数量级。有一些高效率的荧光化合物，如荧光素，黉形酮和奎宁，能检测至 10^{-6} 微克/毫升。

为了成为荧光物，分子必须具有高的吸收。所以，只有高共轭体系的非芳族、芳族和杂环化合物才是荧光物。

一、芳香族碳氢化合物的荧光

一些苯衍生物在乙醇、己烷和水中的荧光光谱列于下表6—1、2。苯本身仅在紫外有微弱的荧光。然而，当苯环上有亲电子基团，如氨基和羟基时，荧光增强。测量荧光波长可以区别不同性质类型的化合物。

当苯环上带有直链时，吸收和荧光峰波长增长而且增强荧光。苯环数增加，或共轭双键增加，荧光增强（见表6—3）。从苯到萘到蒽，荧光产率增加。当芳族碳氢化合物链上的苯环超过三个时，荧光产率迅速跌落。当芳环体系趋向平衡时，荧光波长向蓝色迁移，例如并五苯是红色，苯并蒽是蓝色—绿色，而晕苯是蓝紫色（表6—4）。由此可见，由五个环组成的化合物，根据最长链的缩短，荧光由红色转变成紫色。甚至由七个环组成的蒹，其直链上的环不超过三个，因此荧光呈蓝—紫色，与蒽非

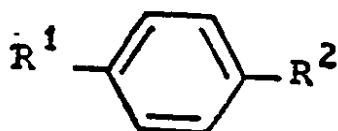
表 6-1
苯衍生物在液体溶液中的荧光光谱

化合物名称	溶剂(A: 乙醇) (H: 己烷)	谱带限度 (nm)	最大值 (nm)
苯	A	255—300	260, 263, 264, 275, 283, 291
甲苯	A	261—300	262, 264, 265, 274, 280, 289
邻二甲苯	A	260—320	260, 268, 271, 280, 290, 304, 313
间二甲苯	A	267—282	268, 271, 280
对二甲苯	A	265—290	268, 274, 280, 286
1,3,5-三甲基苯	A	265—300	270, 271, 275, 279, 286, 297
均四甲苯	H	280—340	连续
苯酚	A	287—350	连续
邻甲苯酚	A	287—385	连续
间甲苯酚	A	286—385	连续
对甲苯酚	A	292—385	连续
邻一羟基苯甲酸	A	376—480	连续
间一羟基苯甲酸	A	328—444	连续
对一羟基苯甲酸	A	323—408	连续
苯胺	A	300—400	连续, 在305, 336处有较弱的峰

续表

化合物名称	溶剂(A: 乙醇 H: 己烷)	谱带限度 (nm)	最大值 (nm)
邻甲氧基苯胺	A	313—429	连续
对甲氧基苯胺	A	339—423	连续
邻甲苯基氰	A	287—376	连续
对甲苯基氰	A	280—351	连续
联苯	H	294—365	294, 305, 314, 319, 327, 340, 355
二苯甲烷	H	272—320	275, 279, 285, 293, 301
联苯基	H	270—320	275, 279, 284, 291, 304
二苯基乙烯	H	270—320	278, 283, 296, 306, 314
二苯醚	H	284—368	连续
二苯胺	H	326—415	连续

表 6—2 一些苯衍生物 (1ppm) 在水中的荧光



R ¹	R ²	$\lambda_{ex}(nm)$	$\lambda_{em}(nm)$	量子效率(%) [*]
H	OH	270	330	3.2

续表

R ¹	R ²	$\lambda_{ex}(nm)$	$\lambda_{em}(nm)$	量子效率(%)
H	OCH ₃	270	303	3.4
H	NH ₂	280	350	2.5
H	N(CH ₃) ₂	286	365	9.7
H	F	257	289	0.7
H	Cl	N.F.**	/	/
H	Br	N.F.**	/	/
H	I	N.F.**	/	/
H	NO ₂	N.F.**	/	/
H	NHCOCH ₃	N.F.**	/	/
H	COOH	N.F.**	/	/
NH ₂	F	289	362	12.3
NH ₂	SO ₃ H	254	352	5.0
NH ₂	OCH ₃	297	375	4.2
NH ₂	CH ₃	289	375	2.8
NH ₂	Cl	290	362	1.7
NH ₂	NHCOCH ₃	290	352	0.018
NH ₂	NO ₂	N.F.**	/	/
OH	CH ₃	278	313	8.8
OH	OCH ₃	289	328	5.9
OH	F	276	315	3.0
OH	Cl	280	317	0.89

续表

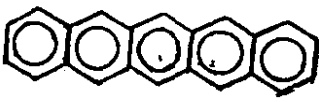
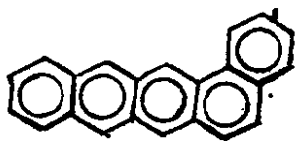
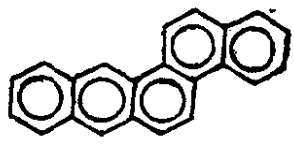
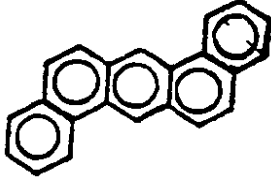
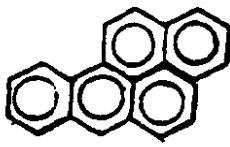
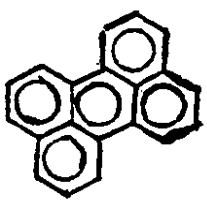
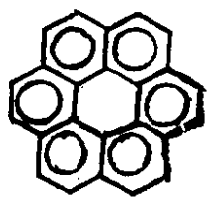
R ¹	R ²	$\lambda_{ex}(nm)$	$\lambda_{em}(nm)$	量子效率(%)*
OH	Br	N.F.**	/	/
OH	NO ₂	N.F.**	/	/
奎宁				55.0

*相对于硫酸奎宁溶于0.1N硫酸中的数值; **N.F.=无荧光。

表 6-3 芳香碳氢化合物在溶液中的荧光光谱

碳氢化合物	荧光光谱 (nm)
苯	250—300
萘	300—365
蒽	372—460
并四苯	460—580 (468, 498, 533, 574)
并五苯	红色
红荧烯	545—623 (峰值560, 590)
菲	348—407 (348, 366, 385, 407)
蒾	360—400
苊	370—400
菲	蓝色 (440, 470)
芴	302—370 (峰值302, 325)
胆蒽	蓝—紫 (400—500)
十环烯	477—600 (476, 510, 552, 595)
氟代环烯	410—540 (415, 440, 466, 504, 435)

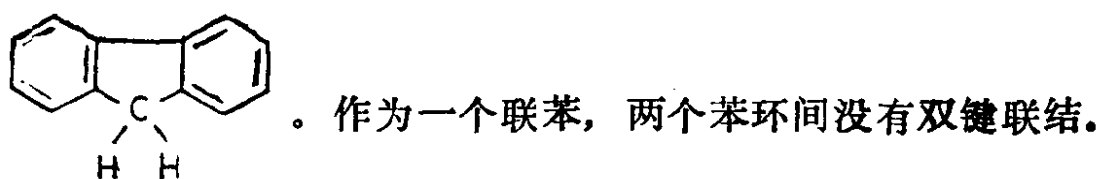
表 6-4 稠环芳族碳氢化合物在己烷中的荧光

化合物	分子式	荧光颜色
并五苯		红色
1,2-苯并四苯		黄-绿色
8,9-苯并蒽		蓝-绿色
1,2,5,6-二苯并蒽		蓝色 (3900, 4150, 4500)
1,2-苯并蒽		蓝-紫色 (3947, 4033, 4089, 4134, 4160, 4286- 4319, 4354)
菲		蓝色
甙		蓝-紫色

常相似。如果再次在蒽上加更多的苯环，则荧光颜色向红色转移。有九个苯环的化合物二苯并蒽和紫蒽的荧光是黄色，而二萘并蒽的荧光是绿色，虽然它也有五个苯环稠成直链状，如并五苯那样，但有三个以上的环加在每一侧链。

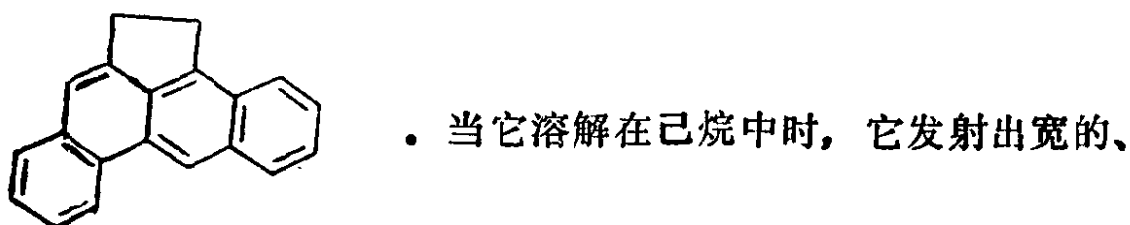
浓度变化也影响荧光光谱，如芘在甲苯中的浓度增加，其荧光由蓝色向绿色变化，但吸收光谱仍保持不变。

芴是一个三环化合物，在它的基态测定，最可能的结构为



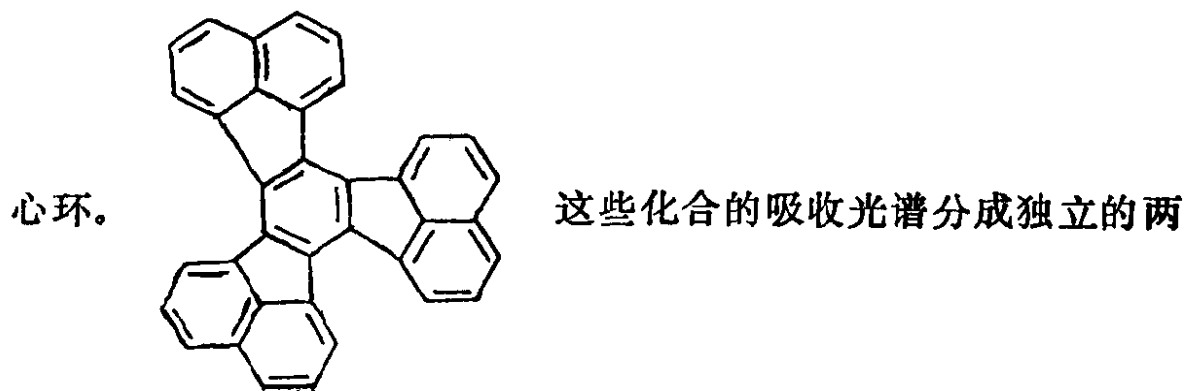
假如这是正确的，其吸收和荧光光谱将主要决定于两个不相接的苯环。事实上，芴的荧光大大不同于联苯。

胆蒽是1,2-苯并蒽的衍生物，是五个联结在一起的苯环



连续的荧光带。

十环烯和氟代环烯有更复杂的结构，有许多萘环围绕一个中



部分：一个谱带在300nm附近，实际上由萘的谱带组成；另一个谱带更长，在340到450nm处。仅在第二谱带处发出可见荧光。

二、杂环化合物的荧光

根据以前的发色团和荧光团理论，杂环化合物，如吡啶，吡咯，二噻吩和吡喃酮都属于发色团，因为它们本身没有荧光。为了研究它们的荧光现象，人们只得假设它们具有荧光团。例如，在吲哚分子中，中心的吡啶环定为发色团，两个苯环定为荧光团。葱和吲哚的结构相似，从而推断出他们的吸收光谱和发射光谱也相似。因为它们具有相同的机理：即在这三环体系的各种结构之间存在共振现象，光谱属于整个分子，而不是属于单独的发色团。在中性溶液中，吲哚的荧光峰位于葱的相同的光谱范围。虽然吲哚的谱带在室温时很宽，但在-180℃成为四个分开的有顺序的带，这与葱的光谱情况相似。另一例子是咕吨酮，它由三个稠环构成，但是在这种化合物分子中心的吡喃酮环上没有任何双键，它的荧光属于紫外荧光。

对于喹唑和氧芴，也同样是紫外荧光，这两种化合物跟芴是完全相似的。但是，咕吨酮上的亚氨基和氧分别影响苯环上的荧光。这对于甲基吲哚酮也同样适用。在中性和酸性溶液中，甲基吲哚酮的吸收和荧光带与吲哚的光谱完全一样。假设甲基吲哚酮为类似葱一样的共振结构，最可能的形式是一种两性离子，如下

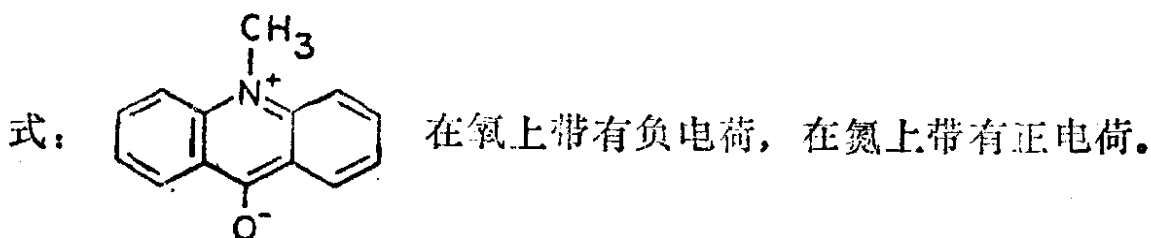


表6—5列出了各种杂环化合物和取代杂环化合物的荧光。

表 6—5 杂环化合物在液体溶液中的荧光

化 合 物	荧光 (nm)
喹啉	385—490
7—羟基香豆素	蓝色
吡啶	425—454 ^a
甲基吡啶酮	425—454 ^a (最大433,445)
咕吨酮	紫外
咪唑	340—420 (最大347,359,370)
二苯醚	310—370 (最大316,328,345)
Alloxazine	紫色
2,4—二氧四氢喋啶	绿色 ^b
甲基氨基柠康甲酰亚胺	黄色
硫酸奎宁	410—500 ^c (最大437)

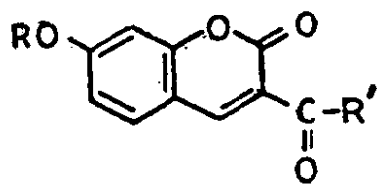
a: 在酸性溶液中为蓝绿色荧光。

b: 在酸性溶液中为蓝色荧光。

c: 在酸性溶液中为蓝白色荧光 (400—675nm, 最大555,466)。

尽管人们对香豆素本身的荧光了解不多, 但多数香豆素的羟基衍生物在溶液中是有荧光的。如7—羟基香豆素。6,7—二羟基香豆素是栗的提取物, 具有强的蓝色荧光。它是一种从植物中提取出的具有荧光的最早一个例子。

人们已经研究了许多类似通式 (如下式) 的香豆素衍生物, 发现在所有情况下其荧光是紫色或蓝色。当通式中的 R' 是苯环时, 则化合物不是荧光物。



谢尔曼和罗宾斯研究了许多取代的 7-羟基香豆素的荧光特征，研究数据列在表 6-6 中。从表中可以发现，它的 3-乙酯

表 6-6 7-羟基香豆素取代物的荧光^a

取代基	$\lambda_{\text{ex}}(\text{nm})$	$\lambda_{\text{em}}(\text{nm})$	荧光强度 ^b	吸收峰 (nm)
3-苯甲酰基-	415	468	6.4×10^{-4}	412
4-苯基-	365	515	1.2×10^{-2}	372
未取代	376	454	0.96	365
4-甲基-	367	449	1.0	359
3-羧基-	396	450	1.9	385
3-Carboxamido-	398	445	2.5	400
3-苯基-	420	456	2.7	412
3-乙酰基	419	458	3.1	413
3-乙酯基-	398	445	3.6	402
3-氰基-	408	450	3.6	407

a, 见参考文献 (1)。

b, 相对于 4-甲基-7-羟基香豆素。

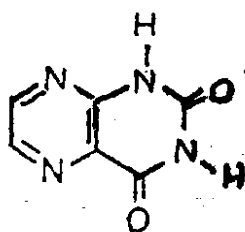
基和 3-氰基衍生物是最主要的荧光物。

喹啉和许多喹啉衍生物是荧光物。如常用来测定铝和镁的 8-羟基喹啉，它在固体状态时是无荧光的，但在醇溶液中却显现较强的绿色荧光。若在其中加入几滴弱酸，则可将荧光完全熄灭。但是，此化合物在酸性水溶液中，与铝和镁形成的小晶体沉淀，在紫外线激发下，则发出非常亮的绿色荧光。四氢喹啉具有亮色荧光，在中性溶液中其荧光颜色为蓝紫色；在碱性溶液中其荧光颜色为黄绿色。人们研究了一些喹啉衍生物的荧光特性，发现在喹啉结构第 6 位有甲氧基或乙氧基以及在第 4 位有羧基的衍生物，仅在酸性情况下能看到荧光，并在一定的浓度范围下荧光强度和 PH 值呈线性关系。

Balemans 等研究了吡啶和 15 种吡啶环的第 3 或第 5 位有取代基的衍生物的荧光特性，发现所有这些化合物在强碱的甲醛溶液中，显出的荧光位于 380—460nm 范围内。在第 5 位没有取代基的吡啶，则在 360nm 处显示弱的荧光。在第 5 位被甲氧基取代的吡啶衍生物，在 545nm 处显示强荧光。在 PH=11.5 以上，所有吡啶衍生物的荧光强度显著降低，荧光峰位于 420nm 处。研究发现，荧光强度降低的原因是由于从受激的吡啶分子的亚氨基氮上转移一个质子到了溶剂的羟基上。但是，如有甲醛存在，则 PH 即使达到 13 时，荧光强度只有很小的减弱。因为甲醛的存在会与吡啶环上的氮化合，生成的产物在激发态不离解。在吡啶氮上的烷基化而形成的化合物，在碱中显示的荧光强度减弱很少。Guilbault 等指出：3-羟基吡啶显示强的红色荧光， $\lambda_{ex}495$ nm, $\lambda_{em}570$ nm。N-甲基吡啶显示绿色荧光， $\lambda_{ex}430$ nm, $\lambda_{em}510$ nm。有人讨论了吡啶衍生物的一种荧光分析方法，其方法原理是：吡啶衍生物与邻苯二醛反应，能生成荧光化合物。但是只有羟基或甲氧基取代吡啶，才产生荧光。如 5-羟基色胺与邻苯二醛反应生成一种强荧光化合物，由此建立的分析方法可检

测低达5纳克的色胺。

人们对咯嗪和它的烷基衍生物是感兴趣的,因为维生素B₂是从咯嗪和它的烷基衍生物中衍生出来的。这些化合物的荧光,在近代维生素分析中起重要作用。这些化合物的三环体系中,除一个吡嗪环和一个嘧啶环外,还含有一个苯环。在偶氮黄素中,苯环被吡啶环置换而不减弱荧光。另一种物质是2,4-二氧四氢嘧啶,由两个杂环组成(一个吡嗪环和一个嘧啶环),结构式为:



它和它的许多烷基衍生物显示了亮的荧光,荧光颜色随PH的增加而从蓝色变到绿色。

喹宁和它的盐的荧光现象,尽管人们早就知道,但至今仍没有得到令人满意的解释。喹宁盐在中性溶液中的荧光是紫色,在酸性水溶液中荧光是蓝白色($\lambda_{ex}250$ 和 350nm , $\lambda_{em}450\text{nm}$),如果将喹宁的硫酸氢盐、盐酸盐或戊酸盐加热到它们的熔点,再将它们溶解在水中,这样得到强的绿色荧光。这些盐在加热过程中脱水,但化合物的结构不一定会发生变化。如果将上述溶液酸化,则它们的荧光重新恢复为蓝白色。如把溶液稀释至很低浓度时,会有同样效果。如将溶液加碱,也不会有绿色荧光。如将预热过的盐酸盐和戊酸盐溶在氯仿中,产生的荧光也是绿色。而硫酸氢盐在同样条件下产生的荧光是蓝色。溶解在苯中的戊酸盐的荧光是紫色。这些现象至今也没有合理的解释。

Perry等报导了几种烷基咪唑的荧光和磷光特性,其研究数据列在表6—7中。研究数据表明,这些发光对于分布咪唑衍生

表 6—7 咪唑和烷基咪唑的荧光和磷光特性

种 类	λ_{ex} (nm)		λ_{em} (nm)		检测限度 (微克/毫升)		磷光寿命 (秒)
	荧光 ^a	磷光 ^b	荧光 ^a	磷光 ^b	荧光	磷光	
咪唑:							
在乙醇中	340	341	360	436	0.0003	0.001	7.8
在环己烷中	340	297	360	435	0.0005	0.001	7.2
n—甲基咪唑:							
在乙醇中	346	336	360	437	0.0008	0.001	8.4
在环己烷中	346	298	360	431	0.0005	0.001	7.5
n—乙基咪唑:							
在乙醇中	339	340	369	437	0.001	0.001	7.8
在环己烷中	340	298	364	433	0.0008	0.001	8.1
2—甲基咪唑:							
在乙醇中	346	333	357	442	0.001	0.001	8.1
在环己烷中	346	332	356	443	0.001	0.001	7.5

a: 在298°K测量。

b: 在77°K测量。

物是有用的。

苯并咪唑本身没有荧光，但当它的第1位和第2位上的两个氢原子被苯环取代时，则此化合物在结晶状态以及在苯溶液中显现强的绿色荧光。如果取代基是联苯基团，则形成二联苯咪唑，此化合物的荧光光谱向红区方向转移。如将甲基引入4位和5位，对荧光光谱没有影响。二氢苯并咪唑的行为也相似，但其荧光峰稍向光谱紫区方向移动。苯并咪唑的荧光性质如表6—8所

示。

表 6—8 苯并咪喃的荧光带峰值

取 代 基	荧 光 带 峰 值	
	苯并咪喃	二氢苯并咪喃
1,3—二苯基	486	384,407
1,3—二苯基—5,6—二甲基	486	384,408,459
1,3—联苯基	525	429,484,496
1,3—联苯基—5,6—二甲基	625	429,491,502

三、有机染料的荧光

在染料索引中有2000多种染料，但在溶液中是荧光物的不到200种。对染料的外观观察只能看到它们的颜色种类和颜色的深浅，不能看到它们的荧光。绝大多数荧光染料，只属于几种类型的染料，如表6—9所示。它们都是咕吨系列（荧光素，罗丹明）、吡啶系列以及吩嗪系列（碱性藏色，萘红）的衍生物。显而易见，这些都是非常重要的。

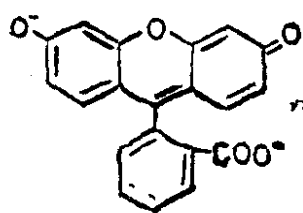
人们发现，在近700种偶氮染料中，没有找到一种在液体中能产生荧光的例子。因为它们由许多苯环与偶氮（—N=N—）的两端相连接而组成，结构上是两个苯环稠合于中心杂环上（如吡啶，吡喃酮或吡嗪环）。

在两种染料间，如吡啶或咕吨染料与二苯甲烷或三苯甲烷染料间进行比较是有意义的。例如，比较罗丹明和孔雀绿的分子式，发现其主要的不同是后者缺乏中心氧，两个苯环不是通过一个闭环连结而是通过一个开的碳桥相连。类似这样的例子还有荧

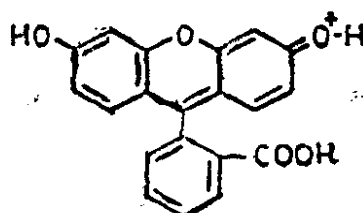
表 6—9 在水溶液或醇溶液中染料的吸收和荧光谱带

化 合 物	第一吸收谱带 (nm)	荧 光	
		谱带 (nm)	颜 色
Fluoran	紫外	290—460(320)	紫, 强
荧光素	440—520(494)	510—590(515)	黄绿, 很强
四溴荧光素	450—560(517)	520—600(540)	黄, 强
四碘荧光素	460—556(516)	518—588(537)	黄, 弱
四碘四氯荧光素	(544)	550—670(500)	橙, 很弱
罗丹明B	480—600(550)	550—700(605)	红, 强
罗丹明 6 G	480—590(526)	536—602(555)	黄, 强
吖啶红	455—600	560—680	橙, 中强
焦宁B	540—590	560—650	橙, 中强
吖啶	300—450	400—480	蓝紫, 中强
吖啶黄	紫外, 520	475—640	绿
Euchrysine	紫外, 540	505—670(585)	黄绿, 中强
Rheonine A	紫外, 510	470—650	绿, 弱
吖啶黄素	紫外, 500	485—660	黄绿, 强
紫红	400—600(524)	550—700(600)	红, 强
藏红	(539)		黄—红
劳氏紫	480—630(580)		橙, 中强
亚甲蓝	550—700(658)	650—700	红, 中强

光素和酚酞。荧光素在醇溶液中荧光很弱，如往溶液中加入碱，则生成荧光素的钠盐。这种钠盐在水中易溶，并且显示出阴性荧光素离子（荧光素钠）的众所周知的黄绿色荧光。荧光素离子有两个相同能量的共振结构，如下式（1）、（2）。在两个对称的氧原子上带有电荷，两者在透射光中都具有相同的黄颜色。如果



(1)



(2)

在荧光素钠的醇溶液中，其溶剂逐渐被乙醚替代，则溶液的颜色和荧光完全消失。在同样条件下，酚酞不同于荧光素，就象孔雀绿不同于罗丹明一样。它在中性溶液中是无色的，在碱性溶液中显深红色。但是，在所有液体溶液中都无荧光。当酚酞的碱性溶液被加进的明胶固化时，酚酞显出鲜橙色荧光。

二苯甲烷和三苯甲烷染料仅在刚性介质中是有荧光的，如蔷薇胺，金胺，甲基紫和品红。闭环结构保护了某些染料的激发分子，防止分子内转换。人们提供了一种相似的保护，即把激发分子连结在刚性结构上。显而易见，分子内的振动有利于阻止内部转化的发生。当吸附在纺织品纤维上时，许多“无荧光”的偶氮染料也是荧光物。前面已经提到，蒽染料在二甲苯和四氢化萘溶液中是有荧光的，因为它由苯稠环组成。

沃恩等研究了萘酚AS染料（结构式如下）的荧光性质。这些染料包括：萘酚AS（3—羟基—2—萘甲酰苯胺），萘酚AS—D，萘酚AS—BI，萘酚AS—GR，萘酚AS—LC，萘酚AS—MX和萘酚AS—TR。PH值对这些萘酚AS衍生物的荧光影

响见图6—1。在PH小于6时，这些化合物无荧光，并从溶液

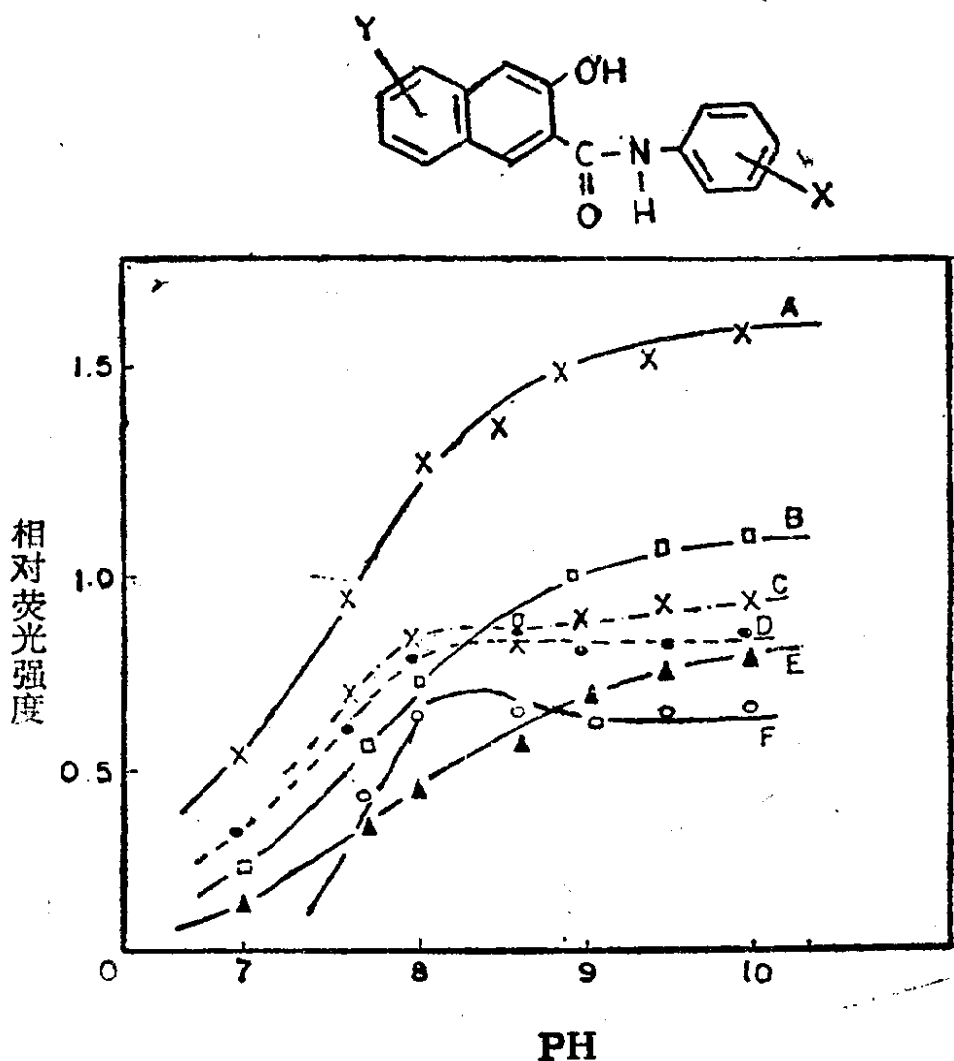


图6—1 PH值对萘酚AS衍生物荧光的影响

($3.2 \times 10^{-6} M$)

- | | |
|------------|------------|
| A: 萘酚AS—D | B: 萘酚AS—TR |
| C: 萘酚AS—LC | D: 萘酚AS—MX |
| E: 萘酚AS—BI | F: 萘酚AS |

中沉淀出来。在PH约为10时，荧光达到极限值。萘酚AS—D和AS—TR具有最强的荧光。在水溶液中萘酚AS—GR没有荧光，但是它的磷酸酯具有强的绿色荧光。萘酚AS衍生物的荧光性质总结在表6—10中。

表 6—10 在 PH 9 时萘酚 AS 衍生物的荧光性质

萘 酚	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	荧光系数 ^a
AS	388	516	2.2×10^6
AS—BI	405	515	2.5×10^6
AS—D	388	515	6.6×10^6
AS—GR	388 ^b	488 ^b	/
AS—GR	388	488	1.3×10^6
磷酸酯			
AS—LC	388	522	2.8×10^6
AS—MX	388	512	2.6×10^6
AS—TR	388	512	3.1×10^6

a. 相对于硫酸奎宁在 1 N 硫酸中的荧光系数为 2.5×10^6 。

b. 溶剂为甲基溶纤剂。

第二节 有机化合物的荧光及其与结构的关系

荧光是由具有吸光结构的物质在吸收光线之后所发出的光线，它的强度和该物质的吸光能力及荧光效率有关。不少的有机化合物，在紫外光照射下并不会产生荧光，在进行荧光分析时必须将它们转化成会产生荧光的物质。有些有机化合物，在紫外光照射下虽能产生荧光，但由于它们的吸光能力和荧光效率不高，所产生的荧光强度不大，还不适用于荧光分析，在进行荧光分析时，也需要将它们转化成能产生明亮荧光的物质。因此，研究化合物的荧光和化学结构的关系，可以帮助我们考虑如何将非荧光

物质转化成荧光物质，或将荧光强度不大的物质转化为荧光强度大的物质，以提高分析方法的效能。

一、 π —电子共轭度的结构改变对荧光的影响

荧光通常是发生于具有刚性结构和平面结构的 π —电子共轭体系分子中，随着 π —电子共轭度和分子平面度的增大，荧光效率也将增高，它们的荧光光谱也将向长波方向移动。

任何有利于提高 π —电子共轭度结构改变，都将提高荧光效率，或使荧光波长向长波方向移动。例如，对苯基化、间苯基化和乙烯化作用，都将增大荧光强度，并使荧光光谱向红移动。数据如表 6—11、表 6—12、表 6—13 所示。

表 6—11 对苯基化作用对荧光的影响（在环己烷中）

化 合 物	荧光效率	平均波长 (nm)
苯	0.07	283
联苯	0.18	316
对联三苯	0.93	342
对联四苯	0.89	366
蒽	0.36	402
9—苯基蒽	0.49	419

表 6—12 间苯基化作用对荧光的影响（在环己烷中）

化 合 物	荧光效率	平均波长 (nm)
苯	0.07	283
联苯	0.18	316
1,2,3—三苯基苯	0.27	355

表 6—13 乙烯化作用的影响

化 合 物	荧光效率	平均波长 (nm)
联苯	0.18	316
4—乙烯基联苯	0.61	333
蒽	0.36	402
9—乙烯基蒽	0.76	432

二、取代基对荧光的影响

具有刚性的、不饱和的、平面构型的多烯系统，具有高的荧光效率，但是内部的甲基取代将由于降低了不饱和性而使荧光效率下降。数据如表 6—14 所示。

表 6—14 多烯结构对荧光效率的影响

结 构	在庚烷中的荧光效率	在苯中的荧光效率
$\text{Ph}(\text{CH}=\text{CH})_3\text{Ph}$	0.43	0.68
$\text{Ph}(\text{CH}=\text{CH})_2\text{Ph}$	0.31	0.28
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{Ph}(\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH})\text{Ph} \end{array}$	0.03	0.02
$\text{Ph}(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}-\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{CH})\text{Ph}$	0.01	/
$\text{Ph}_2(\text{C}=\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{CH})\text{Ph}$	0.13	0.06

在芳族化合物的芳香环上进行不同基团的取代，对化合物的荧光强度和荧光光谱都将产生很大的影响。

1. 苯的烷基化会提高荧光效率, 并使荧光光谱向红移动。数据如下表。

表 6—15 烷基取代对荧光效率和平均波长的影响

化 合 物	荧光效率	平均波长 (nm)
苯	0.07	283
甲苯	0.17	285
乙苯	0.18	286
丙苯	0.14	285
异丁苯	0.14	285

2. 卤化作用对芳族化合物的荧光效率也有影响, 一卤代苯的荧光效率随着卤素的负电性的增大而增大。如氟苯为0.16, 氯苯为0.05, 溴苯为0.01, 碘苯为0.00。9-溴蒽的荧光效率降低到0.05, 而蒽的二溴代作用却使荧光效率基本保持在0.24—0.21。

3. 磺基化对萘的荧光效率的影响, 结果如表 6—16 所示。1-二甲胺基-萘-8-磺酸盐与前三者悬殊的差异, 可能是由于它的分子发生了扭转而离开了平面构型的缘故。

表 6—16 磺基化作用对萘的荧光效率的影响

化 合 物	荧光效率
1-氨基-萘-3,6,8-磺酸盐	0.15
1-二甲胺基-萘-4-磺酸盐	0.48
1-二甲胺基-萘-5-磺酸盐	0.53
1-二甲胺基-萘-7-磺酸盐	0.75
1-二甲胺基-萘-8-磺酸盐	0.03

4. 羟基、甲氧基和氨基对荧光的影响。这些基团的存在会增强荧光强度，并使平均波长向红移动。数据如表6—17所示。

表6—17 羟基、甲氧基和氨基对荧光的影响

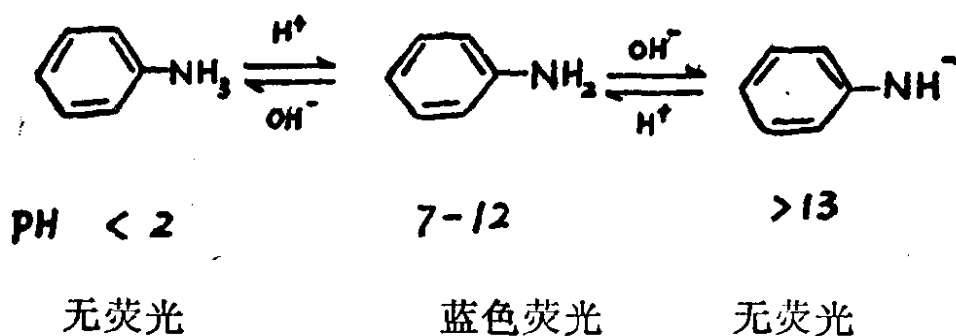
化 合 物	荧光效率	平均波长 (nm)
苯	0.07	223
苯酚	0.08	295
苯甲醚	0.29	296
萘	0.23	334
1—萘酚	0.21	341
2—萘酚	0.32	350
苯胺	0.08	321
1—萘胺	0.46	382
蒽	0.36	402
1—氨基蒽	0.61	475
2—氨基蒽	0.67	465

5. 在单取代的苯类化合物中，含有邻位、对位定向基的化合物，在紫外光照射下会产生荧光，而含有间位定位基的化合物则不发生荧光。例如，苯酚及苯胺在紫外光照射下会产生荧光，硝基苯和苯甲酸则不产生荧光。

据文献报导，一些化学家曾分别对50余种生物物质和50余种药品的荧光性质及其与结构的关系进行过研究，认为具有芳香环并带有给电子取代基的化合物或具有共轭不饱和体系的化合物才会产生荧光。极性的和不饱和的基，如羟基、甲氧基、酚基、巯基及酮基，对于物质的荧光有显著的影响。

三、分子的离解对荧光的影响

未离解的分子和它们的离子呈现不同的荧光性质。例如，苯酚在PH 1 溶液中荧光强度最强，而在PH13溶液中不产生荧光。这表明未离解的苯酚分子会产生荧光，而酚盐离子并不产生荧光。又如苯胺在PH7—12溶液中会产生蓝色荧光，而在PH小于2 溶液和PH大于13 溶液中都不产生荧光。这表明发生荧光的是苯胺分子，而苯胺离子不产生荧光。未离解分子和它们的离子的荧光性质既然如此不同，说明溶液的荧光强度受PH 值的影响很大。



化合物分子结构和离解作用对于荧光的影响，见表6—18所示。

四、其它结构变化对荧光的影响

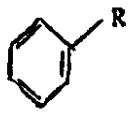
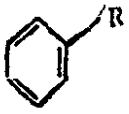
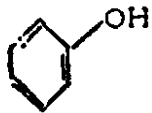
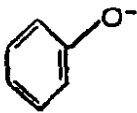

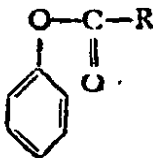
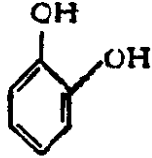
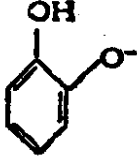
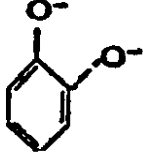
立体异构现象对于荧光强度有显著的影响。顺式和反式同分异构体具有不同的荧光强度。例如，1,2—二苯乙烯的立体异构体足以表明空间排列对于荧光强度的影响，它的反式异构体会发生强大荧光，而顺式异构体则不发生荧光。




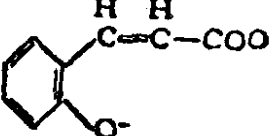
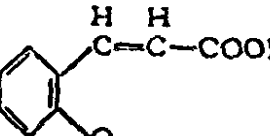
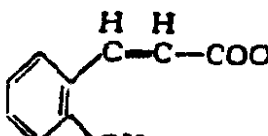
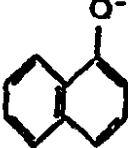
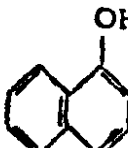
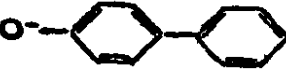

延长共振体系有利于荧光强度的增强，这可由1,4—二苯基丁二烯的反式—反式同分异构体体现出来。它会产生明亮的荧光。如此会使共振体系延长的取代基（例如β—萘基）取代苯基，将使荧光强度更为增强。

如在固体荧光物质中加入另一种固体物质使之成为一固体溶液，对荧光性质将有很大的影响。例如，用长波紫外线（365nm）激发时，固体蒽呈现紫色荧光。如在蒽中加入微量的萘组成固体溶液，则呈现绿色荧光，荧光强度很强。

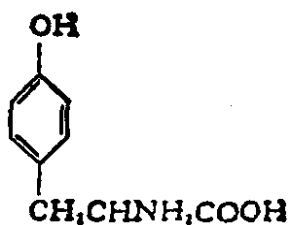
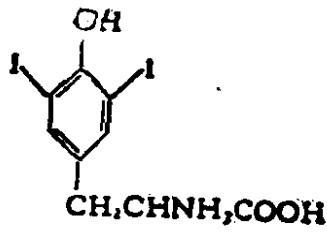
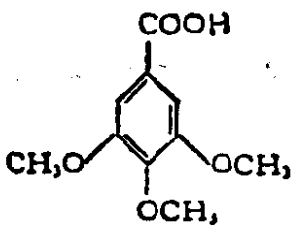
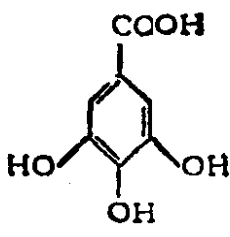


总之，了解化学结构和荧光强度的关系，对于荧光分析者是大有帮助的，但这方面的资料还不够，需要人们继续努力探讨。



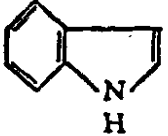

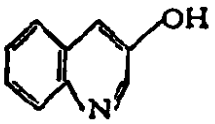

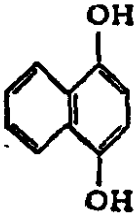
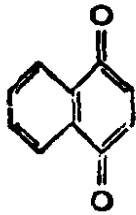
表 6—18 分子结构和离解与荧光的关系

产生荧光的结构	不产生荧光的结构
<p>R=OH —OR —NH₂ —H</p>	<p>R=H, NO₂, COOH. —烷基 —Cl, Br</p>
	
	
<p>苯 酚</p>  <p>苯 酚</p>	 <p>酚 酯</p>
 <p>邻苯二酚</p>	 <p>和</p> 

产生荧光的结构	不产生荧光的结构
	
和	
	
对-羟基苯乙酸	
	
和	
	
邻-香豆酸	
	
α-萘酚	
	
对-羟基联苯	

续表

产生荧光的结构	不产生荧光的结构
 <p>酪氨酸</p>	 <p>二碘酪氨酸</p>
 <p>鞣酸</p>	 <p>三羟基苯甲酸</p>
 <p>苯胺</p>	

产生荧光的结构	不产生荧光的结构
<p style="text-align: center;">NH₂</p>  <p style="text-align: center;">苯胺</p>	<p style="text-align: center;">NHCOCH₃</p>  <p style="text-align: center;">乙酰替苯胺</p>
 <p style="text-align: center;">吲哚(氮杂印)</p>	 <p style="text-align: center;">喹啉</p>
 <p style="text-align: center;">3-羟基喹啉</p>	 <p style="text-align: center;">喹啉</p>
 <p style="text-align: center;">二羟基素</p>	 <p style="text-align: center;">α-萘醌</p>
<p style="text-align: center;">H H H H H H H H</p> <p style="text-align: center;">H₂C—C—C—C—C—C—C—C—CH₂</p> <p style="text-align: center;">癸五烯</p>	<p style="text-align: center;">H H</p> <p style="text-align: center;">H₂C—C—C—CH₂</p> <p style="text-align: center;">丁二烯</p>

第三节 有机化合物的荧光分析法

有机化合物的荧光分析方法可归纳成两种类型。一类是直接的方法，另一类是间接的方法。

一、直接的荧光分析方法

有机化合物的直接荧光分析方法，就是根据有机化合物在合适的溶剂中产生的荧光直接进行检测的一种方法。此类方法简便易行，对有些在溶剂中能产生强荧光的化合物，其检测灵敏度可达0.01ppm。现将一些有机物的直接荧光分析方法列于表6—19中。

表 6—19 一些有机化合物的直接荧光分析方法

化 合 物	溶 剂	PH	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
卞	正戊烷	/	291	341	<0.01
吡啶	三氟乙酸	/	358	475	<0.01
烯丙基吗啡	水	1	285	355	>0.1
对氨基苯甲酸	水	8	295	345	0.01-0.1
氨基蝶呤	水	7	280 370	460	0.01-0.1
1-氨基茈	三氟乙酸	/	330 342	415	<0.01
对氨基水杨酸	水	11	300	405	<0.01

续表

化 合 物	溶 剂	PH	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
Amobarbital	水	14	265	410	0.01-0.1
苯胺	水	7	280 291	344 361	0.01-0.1
蒽嵌蒽	正戊烷	/	350	398	<0.01
蒽	正戊烷	/	420	430	<0.01
邻氨基苯甲酸	水	2.7	355	422	0.01-0.1
抗霉素A	水	8	350	420	0.01-0.1
芳族醛	甲醇	/	/	/	0.01-0.1
Ayapin	水	1	350 365	430	<0.01
吡啶	水	10	290 299	317 347	<0.01
偶氮鸟嘌呤	水	7	285	405	>0.1
苯并吡啶	正戊烷	/	/	/	<0.01
苯并蒽酮	三氟乙酸	/	370 420	550	<0.01
苯并吡啶	三氟乙酸	/	295 380	480	<0.01
苯并蒽	正戊烷	/	284	382	<0.01
苯并蒽	正戊烷	/	283	398	<0.01
11-H苯并茚	正戊烷	/	317	340	<0.01
苯甲酸	70%硫酸	/	285	385	<0.01
苯并芘	正戊烷	/	329	389	<0.01

续表

化 合 物	溶 剂	PH	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
苯并咪啉	三氟乙酸	/	280	425	<0.01
苯并咕吨	正戊烷	/	363	418	<0.01
溴一赖瑟酸二乙酰胺	水	1	315	460	0.01-0.1
二甲马钱子碱	水	7	305	500	0.01-0.1
蟾蜍特宁	水	< 0	292	520	0.01-0.1
咪唑	二甲基甲酰胺	/	291	359	<0.01
甾	正戊烷	/	264	381	<0.01
辛可尼定	水	1	315	445	>0.1
辛可宁	水	1	320	420	>0.1
可待因	水	7	285	350	>0.1
Deserpidine	水	1—2	280	365	0.01-0.1
Desipramine	水	~14	295	415	0.01-0.1
二苯并蒽	正戊烷	/	280	381	<0.01
二苯并蒾	正戊烷	/	308	428	<0.01
二苯并芘	正戊烷	/	370	401	<0.01
5,12—二氢萘	正戊烷	/	282	340	0.01-0.1
联苯	水	7	270	318	>0.1
1,4—二苯基丁二烯	正戊烷	/	328	370	<0.01
肾上腺素	水	7	285	325	>0.1
Esenletin	水	10	365 390	465	0.01-0.1

续表

化 合 物	溶 剂	PH	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
Ethacridine	水	2	370 425	515	<0.01
萤蒽	正戊烷	/	354	464	<0.01
苻	正戊烷	/	300	321	<0.01
龙胆酸	水	7	315	440	0.01-0.1
Griseofulvin	水	7	295 335	450	<0.01
哈尔碱	水	1	300 365	400	<0.01
马尿酸	70%硫酸	/	270	370	<0.01
Hydroxyamphet- amine	水	1	275	300	>0.1
Imipramine	水	14	295	415	0.01-0.1
吲哚乙酸	水	8	295	345	0.01-0.1
吲哚	水	7	269 315	350	0.01-0.1
Indomethacine	水	13	300	410	<0.01
Levo-dromoran	水	1	275	320	>0.1
赖瑟酸二乙酰胺	酸	/	325	445	<0.01
甲萘醌	乙醇	/	335	480	0.01-0.1
Mephesisin	水	1	280	315	>0.1
9-甲基蒽	正戊烷	/	382	410	<0.01
8-甲基胆蒽	正戊烷	/	297	392	<0.01

续表

化 合 物	溶 剂	PH	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
7-甲基二苯并茚	正戊烷	/	460	467	<0.01
2-甲基菲	正戊烷	/	257	357	<0.01
3-甲基菲	正戊烷	/	292	368	<0.01
1-甲基茚	正戊烷	/	336	394	<0.01
4-甲基茚	正戊烷	/	338	386	<0.01
吗啡	水	7	285	350	>0.1
萘乙酰胺	水	11	270 305	327	>0.1
萘乙酸	水	11	270 305	327	>0.1
新辛可芬	水	1	275 345	455	>0.1
降肾上腺素	水	7	285	325	>0.1
Pamaquine	酸性溶液	<0	370	530	0.01-0.1
戊二乙基丙二酰脲	水	13	265	440	>0.1
菲	正戊烷	/	252	362	0.01-0.1
苯二乙基丙二酰脲	水	13	265	440	>0.1
邻苯二茚	正戊烷	/	360	506	<0.01
苯二茚	水	1	270	305	0.01-0.1
毒扁豆碱	水	7	265	315	>0.1
茚	正戊烷	/	281	398	<0.01

续表

化 合 物	溶 剂	PH	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
胡椒基丁醚	甲醇	/	282 302	318	>0.1
Piperoxan.	水	7	290	325	>0.1
鬼臼毒	水	11	280	325	>0.1
普鲁卡因	水	11	275	345	0.01-0.1
普鲁片因酰胺	水	11	295	385	>0.1
正丙基增效剂	甲醇	/	280 305	326	>0.1
Psilocin	水	7	292	314	>0.1
芫	正戊烷	/	330	382	<0.01
吡哆醛	水	12	310	365	0.01-0.1
奎吡因	水	11	285	420	<0.01
奎尼定	水	1	350	450	<0.01
奎宁	水	1	250 350	450	<0.01
Rescinnamine	水	1	310	400	>0.1
利血平	水	1	300	375	<0.01
芸香甙	酸性溶液	/	430	520	0.01-0.1
水杨酸	水	10	310	400	<0.01
Scoparone	水	10	350 365	430	<0.01
莨菪亭	水	10	365 390	460	<0.01

续表

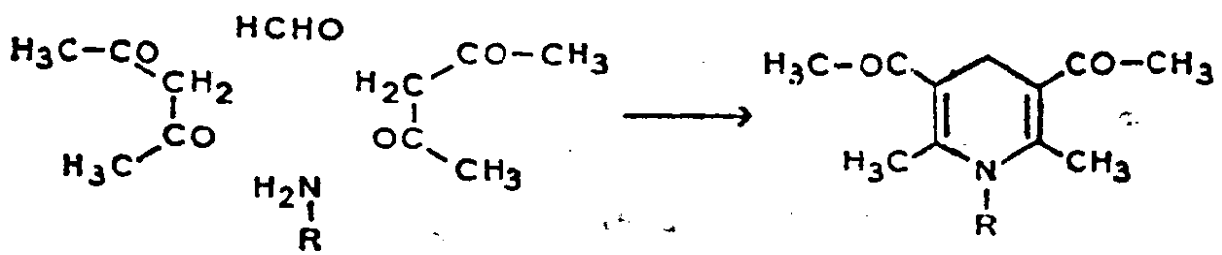
化 合 物	溶 剂	PH	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
链霉素	水	13	366	445	0.01-0.1
Synephrin	水	1	270	310	<0.01
对联三苯	正戊烷	/	284	338	<0.01
Thiamylal	水	13	310	530	>0.1
Thiopental	水	13	315	530	>0.1
三苯并芘	正戊烷	/	384	448	<0.01
三亚苯	正戊烷	/	288	357	0.01-0.1
维生素A	正丁醇	/	340	490	0.01-0.1
杀鼠灵	甲醇	/	290 342	385	0.01-0.1
育亨宾	水	1	270	360	0.01-0.1
Zoxazolamine	水	11	280	320	0.01-0.1

二、间接的荧光分析方法

许多本身不产生荧光的化合物，经与合宜的试剂反应，能生成可产生荧光的化合物。由此建立的分析方法，即为间接的荧光分析方法。

例如，第一脂族胺本身无荧光，但它能与乙酰丙酮和甲醛反应，生成N取代基2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啶，产物发黄绿色荧光。由此建立了脂族胺的荧光分析方法，检测灵敏度为每毫升微克数量级。反应式如下：

在有机化合物的荧光分析法中，重点介绍这一类分析方法。



本书按有机官能团进行排列，结果报告多数按《有机化合物及药物的比色法和荧光分析法》的形式报告。

第七章 醇、酚的荧光分析

第一节 醇的荧光分析

一、概述(1)

所有的醇都能与8-羟基喹啉钒盐反应,生成络合物,所形成的络合物水解,释放出的8-羟基喹啉再与镁络合生成荧光产物。利用这一反应可作醇的荧光测定,其灵敏度可达微克级。

在碱性条件下,醇可以在脱氢酶的作用下,生成相应的醛,这时,辅酶NAD在反应中变成荧光产物NADH。醇氧化酶也可使醇氧化成醛,同时伴有过氧化氢放出,用对羟基苯乙酸和过氧化酶对所生成的过氧化氢作荧光测定,可检测0.1—100微克/毫升的醇。

第一醇可以用2,6-二氯-4-三甲基苯重氮氯-氟硼酸铵氧化,生成醛,再通过用环己烷-1,3-二酮和氨进行Hantzsch反应生成9位被取代的十氢吡啶1,8-二酮荧光产物。乙醇除外,因为它发生反应很弱。

1,2-二醇、己糖醇、 α -氨基第一醇、17-甾醇,可用高碘酸离子氧化,生成的甲醛再用乙酰乙酸乙酯和氨反应生成2,6-二甲基-3,5-二乙酯基-1,4-二氧吡啶而进行显色。2-硝基-1-羟基化合物在碱性介质中可以分解生成硝基烷和甲醛,生成的甲醛可直接与乙酰乙酸乙酯和氨反应而显色。2,3-二羟基

—1—羧酸也可以用高碘酸离子氧化，生成的水合乙醛酸在酸性介质中与间苯二酚反应得到2,2',4,4'—四羟基联苯基醋酸的内酯，此产物在空气中能被氧化生成一种带荧光的醌型产物而达到测定的目的。

α —乙醇酸用高碘酸氧化生成的醛，可以分别与6—氨基—1—萘酚—3—磺酸、2,4—戊二酮和双甲酮反应，生成不同的荧光产物。

二、分析方法

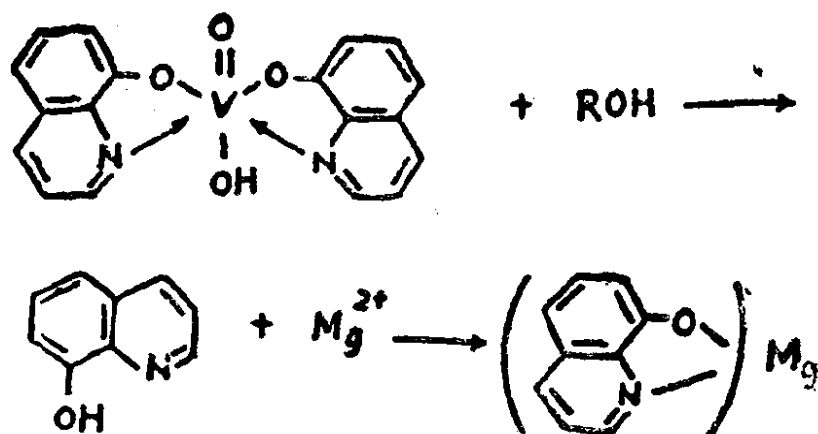
(一) 醇。

1. 8—羟基喹啉钒盐和醋酸镁法⁽²⁾。

原理：

在蓝紫色溶液的8—羟基喹啉钒盐氯仿液中，加入醇显示出红色。选择性除去过量的试剂后，红色产物被水解，这样释放出8—羟基喹啉再与镁络合：蓝绿色荧光。

反应式：



红色产物 (结构没有确定)

(蓝绿色荧光)

试剂和溶剂：

a. 去醇氯仿。

取500毫升氯仿，加入100毫升铬酸钾的1 N 硫酸溶液，摇荡15分钟，除去水层，重复操作两次以上，然后用100毫升水、100毫升1 N氢氧化钠连续洗氯仿层，再用100毫升水分4次洗，用无水硫酸镁过滤，储存在充氮的琥珀色瓶中。此试剂可以稳定两天左右。

b. 8-羟基喹啉钒盐试剂。

在9毫升氯仿a中，加入0.04克8-羟基喹啉钒的钠盐，取它沸腾的悬浮液，加入1毫升含有0.026克冰醋酸的氯仿a，在回流的条件下保持沸腾1分钟，冷却，过滤。现用现配。

c. 1 : 3 浓盐酸 : 乙醇的混合液。

d. 1% 醋酸镁 ($\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 水溶液。

操作手续：

取0.5毫升样品氯仿a溶液，加入0.3毫升试剂b，用棉花塞住试管口，在50℃加热10分钟。在冰水中冷却，加入1毫升氯仿a，混合，将溶液移至10毫升分液漏斗中，游离出油脂状物。用2毫升1 N的氢氧化钠洗涤试管，将清洗液倒到漏斗中，精确振荡20秒，静置直到分层完全，吸去水层并用2毫升1 N的氢氧化钠反复洗有机相两次以上，收集有机层，取此溶液1毫升，加入0.2毫升试剂c，0.1毫升试剂d和0.5毫升氢氧化铵 ($d = 0.92$, $22^\circ\text{Be}'$) 水溶液，在每次加入试剂后试管振荡几秒，用3毫升乙醇稀释，摇荡到溶液澄清为止。然后读数，激发峰366 mm，荧光峰520nm。

标准溶液：

在5毫升含有10微克/毫升8-羟基喹啉的乙醇溶液中，加入0.5毫升1% 醋酸镁 ($\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 水溶液，并用乙醇稀释。

结果：

化合物	检测限度 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升 8-羟基喹啉
甲醇	5—2.5	11.5	1.49
乙醇	8—40	15	1.33
正丁醇	10—50	18	1.52
异丁醇	20—100	38	1.43
叔丁醇	100—500	210	1.67
正戊醇	12—60	24	1.52
异戊醇	40—200	87	2.05
叔戊醇	80—400	172	1.45
苯甲醇	25—125	47.2	1.67
环己醇	25—125	45	1.52

2. 脱氢酶法⁽³⁾。

原理:

在 $\text{PH}=8.8$ 时, 乙醇由于醇类脱氢酶的作用而成为乙醛, 这时, 辅酶 NAD 在反应中变为 NADH , NADH 的荧光可在 $\lambda_{\text{ex}} 350-360\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}} 435\text{nm}$ 处测定。

3. 醇氧化酶法⁽⁴⁾。

原理:

醇在醇氧化酶的催化氧化下生成醛, 同时伴有过氧化氢放出, 然后使用对羟基苯乙酸和过氧化酶对所生成的过氧化氢作荧光测定。灵敏度为 $0.1-100$ 微克/毫升。

4. 2-(4'-异氰酸苯)-6-甲基苯并噻唑法⁽²⁰⁾。

试剂结构:



它能与醇生成荧光产物而用于测定, 荧光峰383mm.

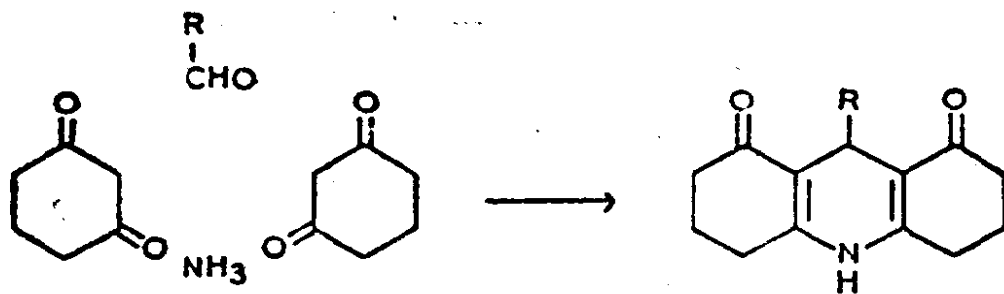
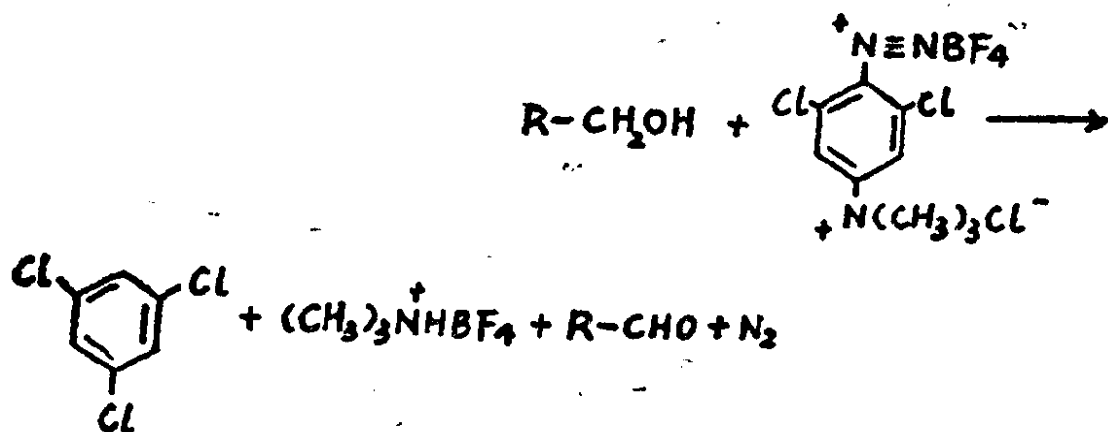
(二) 第一醇(5, 6, 7).

1. 2,6-二氯-4-三甲氨基苯重氮氯-氟硼酸盐、环己烷-1,3-二酮和醋酸铵法.

原理:

用2,6-二氯-4-三甲氨基苯重氮氯-氟硼酸氧化醇, 生成的醛再用环己烷-1,3-二酮和氨显色: 黄绿色荧光.

反应式:



试剂:

a. 0.1% 2,6-二氯-4-三甲氨基苯重氮氯-氟硼酸水溶

液。现用现配。

b. 在8毫升水中溶解0.025克的环己烷—1,3—二酮, 1克醋酸铵和0.5毫升冰醋酸, 用水稀释到10毫升。

操作手续:

取0.5毫升乙醇水溶液, 加入0.5毫升试剂a, 用125 W 汞蒸气灯在距离8英寸处照射15分钟。在冰水中冷却1分钟, 加入0.5毫升试剂b, 用棉花塞住试管口, 在50℃加热45分钟, 再一次用灯光照射一下。在冰水中冷却2分钟, 加入3毫升2 N的氢氧化钠, 在激发峰436nm处读数。

标准溶液:

十氢吡啶—1,8—二酮于49:12 1 N氢氧化钠和乙醇中配成的溶液。

结果:

化合物	荧光峰, nm	检测限度, 微克	读数50	
			样品, 微克	标准, 微克/毫升
甲醇	525	80—400	96	0.15
乙醇	515	1.2—6	1.6	0.17
正丙醇	515	4.0—2.0	8.6	0.23
正丁醇	515	4.0—2.0	8.8	0.20
苯甲醇	510	10—50	19	0.22

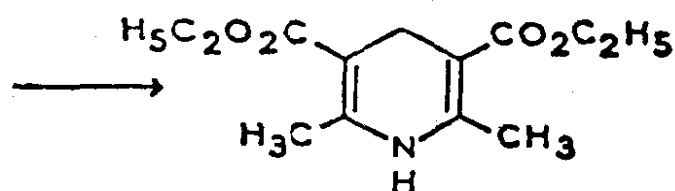
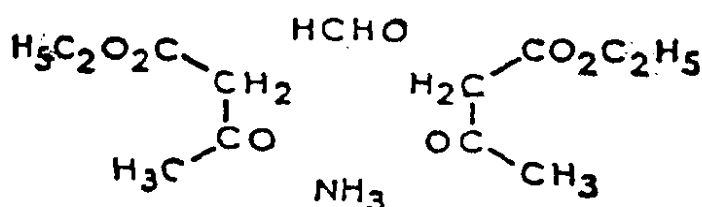
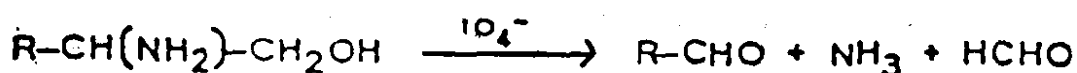
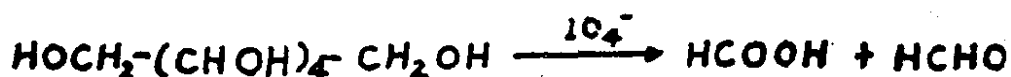
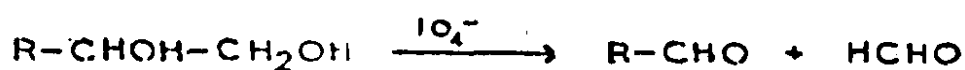
(三) 1,2—二醇, 己糖醇, α —氨基第一醇。

1. 偏高碘酸钠, 乙酰乙酸乙酯和醋酸铵法⁽⁸⁾。

原理:

用高碘酸盐离子氧化, 生成的甲醛用乙酰乙酸乙酯和氨显

色：蓝色荧光。



试剂：

a. 0.05N偏高碘酸钠水溶液。

b. 2.35克氯化亚锡 ($\cdot 2H_2O$) 溶解在5毫升浓盐酸中，并用水稀释到100毫升。

c. 2%乙酰乙酸乙酯的20%醋酸铵水溶液。

操作手续：

取1毫升样品的水溶液，加入0.5毫升试剂a，在室温下静置30分钟，然后加入0.5毫升试剂b，2毫升水和1毫升试剂c，每次加入试剂后需混匀。在60℃加热20分钟，冷却，过滤。作荧光读数。激发峰366nm，荧光峰470nm。

标准溶液：

2,6—二甲基—3,5—二乙酯基—1,4—二氢吡啶溶在 49 : 1 的水和乙醇的混合液中。

结果：

化 合 物	检测限度, 微 克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
1,2—二醇:			
乙二醇	1—5	2.0	1.95
丙二醇	1—10	4.3	1.75
甘油	1—5	2.1	1.54
双氢链霉素 (倍半硫酸盐)	20—100	42.0	1.61
己糖醇:			
甘露糖醇	5—25	10.0	2.63
山梨糖醇	8—15	6.0	1.82
α —氨基第一醇:			
单乙醇胺	1—5	2.0	2.0
丝氨酸	4—20	9.0	2.23

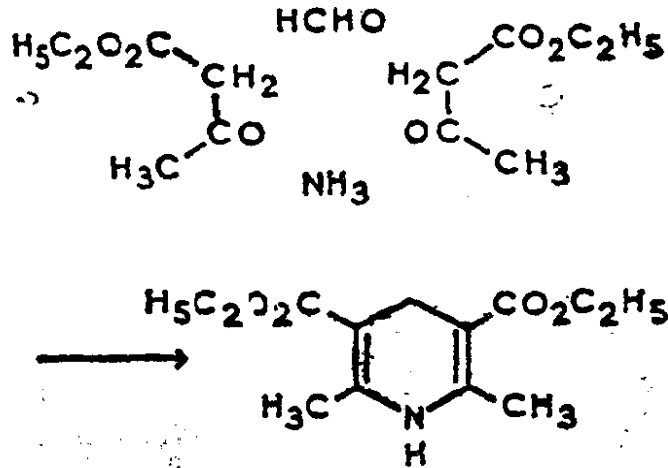
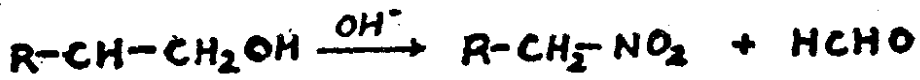
(四) 2—硝基—1—羟基化合物。

1. 乙酰乙酸乙酯和醋酸铵法⁽⁸⁾。

原理：

2—硝基—1—羟基化合物在碱性介质中分解生成硝基烷和甲醛，生成的甲醛再用乙酰乙酸乙酯和氨显色，蓝色荧光。

反应式:



试剂:

2% 乙酰乙酸乙酯的20% 醋酸铵水溶液。

操作手续:

取 1 毫升样品的水溶液, 加入 1 毫升 0.5N 的氢氧化钠溶液。在室温下静置 5 分钟, 再加入 1 毫升 1N 的盐酸和 1 毫升试剂, 在 60°C 加热 20 分钟, 在水浴中冷却到室温, 作荧光读数。λ_{ex}

结果:

化 合 物	检测限度, 微 克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
硝基—2—丁醇—1	2—10	4	0.94
硝基—2—甲基—2—丙二 醇—1,3	1—5	2.1	1.09
硝基—2—乙基—2—丙二 醇—1,3	1—5	2.2	1.07

366nm, λ_{em} 470nm.

标准溶液:

2,6—二甲基—3,5—二乙酯基—1,4—二氢吡啶溶在 99 : 1 的水和乙醇的混合液中。

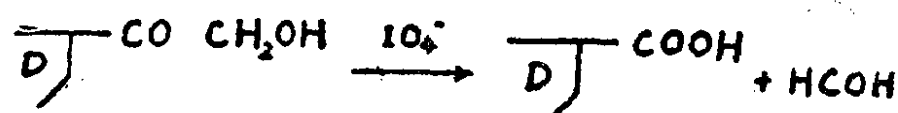
(五) 17—甬醇。

1. 偏高碘酸钠、乙酰乙酸乙酯和醋酸铵法⁽⁸⁾。

原理:

甬醇用高碘酸氧化生成的甲醛,再用乙酰乙酸乙酯和氨显色:蓝色荧光。

反应式:



甲醛显色同上法。

试剂:

- 0.01M 偏高碘酸钠水溶液。
- 0.25克氯化亚锡 ($\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 溶解在 100 毫升 1 N 的盐酸中,现用现配。
- 4% 乙酰乙酸乙酯的 20% 醋酸铵水溶液。

操作手续:

取 1 毫升 2% 的样品乙醇液,加入 0.2 毫升试剂 a, 在室温下静置 20 分钟,然后依次加入 0.8 毫升试剂 b, 0.8 毫升 1 N 的氢氧化钠和 1.2 毫升水,再加入 1 毫升试剂 c, 在 60℃ 加热 20 分钟,冷却并过滤,作荧光读数。 λ_{ex} 366nm, λ_{em} 470nm.

标准溶液:

2,6—二甲基—3,5—二乙酯基—1,4—二氢吡啶溶在 49 : 1 的水和乙醇混合液中。

结果：

化 合 物	检测限度, 微 克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
脱氢皮质甾酮	6.30	12.0	1.75
皮质酮	6.30	12.0	1.85
Prednisone	6.30	12.0	1.85
Prednisolone	8.40	17.0	2.05

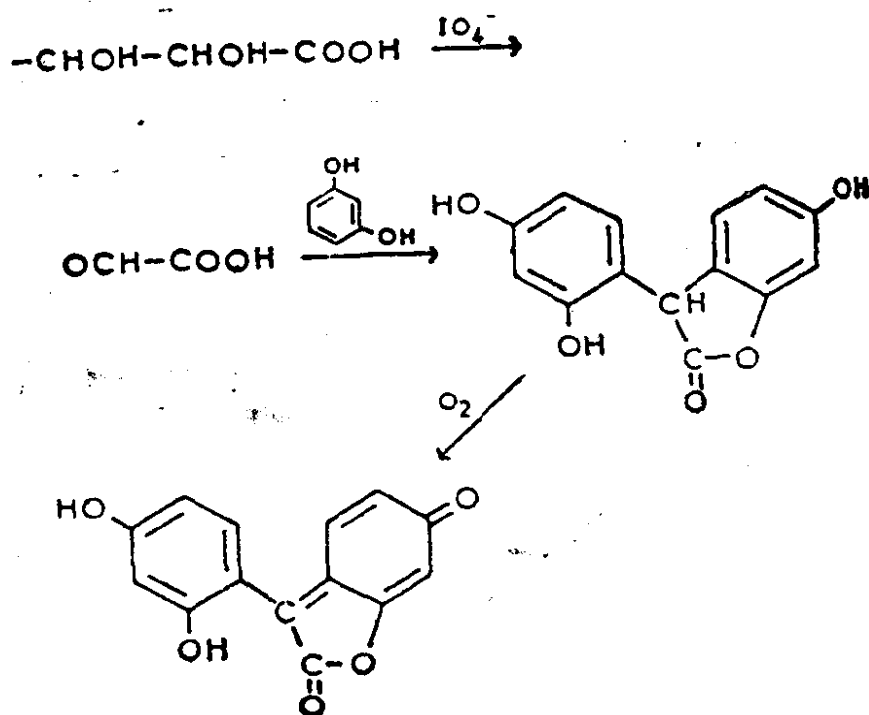
(六) 2,3-二羟基-1-羧酸^(8,9)。

1. 偏高碘酸钠和间苯二酚法。

原理：

用高碘酸盐离子氧化，生成的水合乙醛酸再用间苯二酚在酸性介质中反应得到2,2',4,4'-四羟基联苯基醋酸的内酯，此产物在空气中被氧气氧化得到醌的衍生物，黄绿色荧光。

反应式：



试剂:

a. 0.05M的偏高碘酸钠水溶液用1N的氢氧化钠调到PH为10.

b. 0.1N的亚砷酸钾水溶液(1升溶液中含有4.945克的氧化亚砷, 75毫升1N的氢氧化钾和40.0克的碳酸二氢钾).

c. 取50毫升0.1N的硝酸银, 加入5毫升1N的氢氧化钠, 沉淀析出, 倾去上层清液, 用倾泌法水洗沉淀, 将沉淀溶解在1N的硫酸中, 并用酸稀释到150毫升.

d. 2%的间苯二酚水溶液.

e. 碳酸二氢钾饱和溶液.

操作手续:

取1毫升酸的中性水溶液, 加入0.2毫升试剂a, 在室温下静置15分钟, 加入0.5毫升试剂b破坏多余的高碘酸盐, 在室温下静置20分钟, 加入0.3毫升试剂c至碘酸盐沉淀中, 混合, 再加入1毫升水, 过滤. 取滤液1毫升, 加入1毫升浓盐酸和0.5毫升试剂d. 在60℃加热20分钟, 在水浴冷却至室温, 慢慢加入5毫升试剂e并振荡, 在60℃加热15分钟, 冷至室温, 作荧光读数. λ_{ex} 436nm, λ_{em} 530nm.

标准溶液:

荧光素钠水溶液.

结果:

化 合 物	检测限度, 微 克	读数50	
		样品(微克)	标准, 微克/毫升
酒石酸	1—5	2.1	0.13
粘 酸	1—5	2.3	0.076
acid galaturonique(H ₂ O)	2—10	4.7	0.077
acid glucuronique	2—10	4.5	0.068

(七) α -乙醇酸⁽¹⁰⁾。

1. 6-氨基-1-萘酚-3-磺酸法。

原理：

α -乙醇酸用高碘酸氧化成醛，再用6-氨基-1-萘酚-3-磺酸反应生成荧光产物。

试剂：

a. 将高碘酸溶在1:280的浓硫酸:水的混合液中，配成0.5%的浓度。

b. 将亚砷酸钠溶在1:20的浓盐酸:水的混合液中，配成2%的浓度。

c. 0.01% 6-氨基-1-萘酚-3-磺酸的浓硫酸溶液。

操作手续：

取1毫升样品的水溶液，加入0.2毫升试剂a，15分钟后加入0.4毫升试剂b，静置15分钟，加入5毫升试剂c，15分钟后用浓硫酸冲稀至10毫升，放在水中冷却，作荧光读数。 $\lambda_{ex}461nm$ ， $\lambda_{em}518nm$ 。

结果：

化 合 物	MM.T. 在F460/515nm(微克)	试剂浓度
阿糖醇	1.500	$5 \times 10^{-6}M$
木糖醇	1.750	$5 \times 10^{-6}M$
丙三醇	1.080	$5 \times 10^{-6}M$
己六醇	1.300	$5 \times 10^{-6}M$
乙二醇	1.400	$5 \times 10^{-6}M$
山梨糖醇	1.400	$5 \times 10^{-6}M$
甘露糖醇	1.275	$5 \times 10^{-6}M$

续表

化 合 物	MM·T. 在F460/515nm(微克)	试剂浓度
葡糖酸	0.640	$5 \times 10^{-6}M$
2-脱氧-D-葡萄糖	0.555	$5 \times 10^{-6}M$
果糖	0.480	$5 \times 10^{-6}M$
葡萄糖	0.225	$5 \times 10^{-6}M$
鼠李糖	0.002	$5 \times 10^{-6}M$
D-核糖	0.570	$5 \times 10^{-6}M$
2-脱氧-D-核糖	0.650	$5 \times 10^{-6}M$
二羟基丙酮	0.675	$5 \times 10^{-6}M$

2. 2,4-戊二酮法。

原理：

α -乙醇酸用高碘酸氧化生成的醛，再用 2,4-戊二酮反应生成荧光产物。

试剂：

a、b. 同 1 法。

c. 15克醋酸铵，0.2毫升 2,4-戊二酮和 0.3 毫升稀醋酸混合后用水稀至100毫升。

操作手续：

取 1 毫升样品的水溶液，加入 0.2 毫升试剂a，反应 15 分钟后，加入 0.4 毫升试剂b，2 分钟后加入 2 毫升试剂c，混合物在 75℃加热 10 分钟，冷却，在 $\lambda_{ex}405nm$ ， $\lambda_{em}510nm$ 处读数。

结果:

化 合 物	M·M·T 在F405/510nm(微克)	试剂浓度
阿糖醇	0.070	$2.8 \times 10^{-4} M$
木糖醇	0.077	$2.8 \times 10^{-4} M$
丙三醇	0.080	$2.8 \times 10^{-4} M$
己六醇	0.064	$2.8 \times 10^{-4} M$
乙二醇	0.078	$2.8 \times 10^{-4} M$
山梨糖醇	0.073	$2.8 \times 10^{-4} M$
甘露糖醇	0.077	$2.8 \times 10^{-4} M$
葡糖醇	0.033	$2.8 \times 10^{-4} M$
2-脱氧-D-核糖	0.044	$2.8 \times 10^{-4} M$
二羟基丙酮	0.049	$2.8 \times 10^{-4} M$
2-脱氧-D-葡萄糖	0.028	$2.8 \times 10^{-4} M$
果糖	0.034	$2.8 \times 10^{-4} M$
D-核糖	0.003	$2.8 \times 10^{-4} M$
葡萄糖	0.001	$2.8 \times 10^{-4} M$
鼠李糖	0.000	$2.8 \times 10^{-4} M$

3. 双甲酮法.

原理:

α -乙醇酸用高碘酸氧化生成醛, 再与双甲酮反应生成荧光产物.

试剂:

a. b. 同1法.

c. 2.5克醋酸铵, 0.3克双甲酮和0.4毫升稀醋酸混合后用

水稀释至100毫升。

操作手续：

取1毫升样品的水溶液，加入0.2毫升试剂a，反应15分钟后，加入0.4毫升试剂b，2分钟后加入2毫升试剂c，混合物在100℃加热10分钟，用水冷却后读数。 $\lambda_{ex}392nm$ ， $\lambda_{em}462nm$ 。

结果：

化 合 物	M·M·T 在F ³⁹² /460nm处(微克)	试剂浓度
阿糖醇	0.81	$2.8 \times 10^{-6}M$
木糖醇	0.81	$2.8 \times 10^{-6}M$
丙三醇	0.74	$2.8 \times 10^{-6}M$
己六醇	0.68	$2.8 \times 10^{-6}M$
乙二醇	0.60	$2.8 \times 10^{-6}M$
山梨糖醇	0.52	$2.8 \times 10^{-6}M$
甘露糖醇	0.42	$2.8 \times 10^{-6}M$
葡糖醇	0.34	$2.8 \times 10^{-6}M$
2-脱氧-D-葡萄糖	0.17	$2.8 \times 10^{-6}M$
二羟基丙酮	0.28	$2.8 \times 10^{-6}M$
2-脱氧-D-核糖	0.29	$2.8 \times 10^{-6}M$
果糖	0.16	$2.8 \times 10^{-6}M$
D-核糖	0.025	$2.8 \times 10^{-6}M$
葡萄糖	0.01	$2.8 \times 10^{-6}M$
鼠李糖	0.0002	$2.8 \times 10^{-6}M$

A、B、C三种方法结果的对比：

	空白值 (微克)	%S [*] (±)	遵循比尔定律 范围(微克)	荧光稳定时间 (分钟)
脱氧核糖：				
A	1.8	4.86	0.5—11	>60
B	0.7	3.45	1.5—58	>60
C	9.4	9.1	0.4—6.8	5

注：S^{}为至少11次试验的相对误差。

第二节 酚的荧光分析

一、概述

水杨酸酯可在碱性的二甲基甲酰胺溶剂中直接测定。

对乙酰氨基苯酚的测定有三种方法：一是先用铁氰化钾氧化后，再在二甲基甲酰胺溶剂中测定；二是用盐酸水解后，在碱性介质中与苯胺反应生成荧光产物；三是在有微量亚硝酸钠和硝酸的存在下与1—亚硝基—2—萘酚反应生成10—乙酰氨基—5H—苯并吩噁嗪—5—酮荧光产物；2—特丁基—4—甲氧基酚也能反应，生成的荧光产物为8—特丁基—10—甲氧基—5H—苯并吩噁嗪—5—酮。

苯肾上腺素与甲醛缩合生成的4,6—二羟基—2—甲基—1,2,3,4—四氢异喹啉，再用铁氰化钾的碱性溶液氧化生成荧光产物6—羟基—2—甲基—异喹啉氯化物。邻甲氧基苯酚甘油基醚，先用高碘酸氧化，生成的甲醛也用此反应显色。

水合乙醛酸可与苯肾上腺素缩合生成 4,6-二羟基-2-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-羧酸，再用铁氰化钾氧化生成荧光产物 6-羟基-2-甲基异喹啉盐酸盐。

二、分析方法

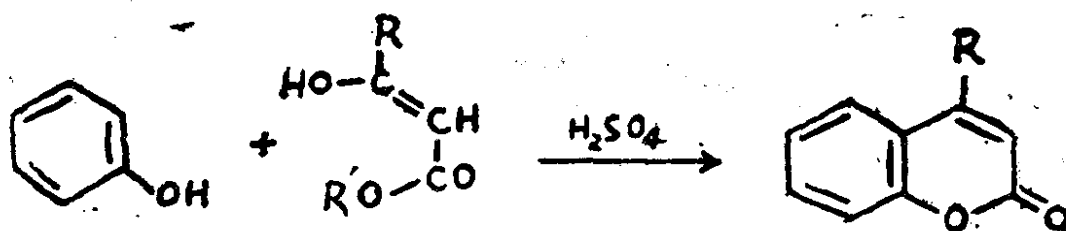
(一) 酚⁽⁸⁾。

1. 乙酰乙酸乙酯法。

原理：

在硫酸介质中与乙酰乙酸乙酯缩合生成香豆素：蓝—蓝紫色荧光。

反应式：



试剂：

2% 乙酰乙酸乙酯的乙醇溶液。

操作手续：

取 1.5 毫升样品的乙醇溶液，加入 1 毫升试剂，然后沿试管壁慢慢加入 2.5 毫升浓硫酸，在室温下静置 15 分钟后，在激发峰 366nm 处读数。

标准溶液：

0.1N 的硫酸奎宁溶液。

结果:

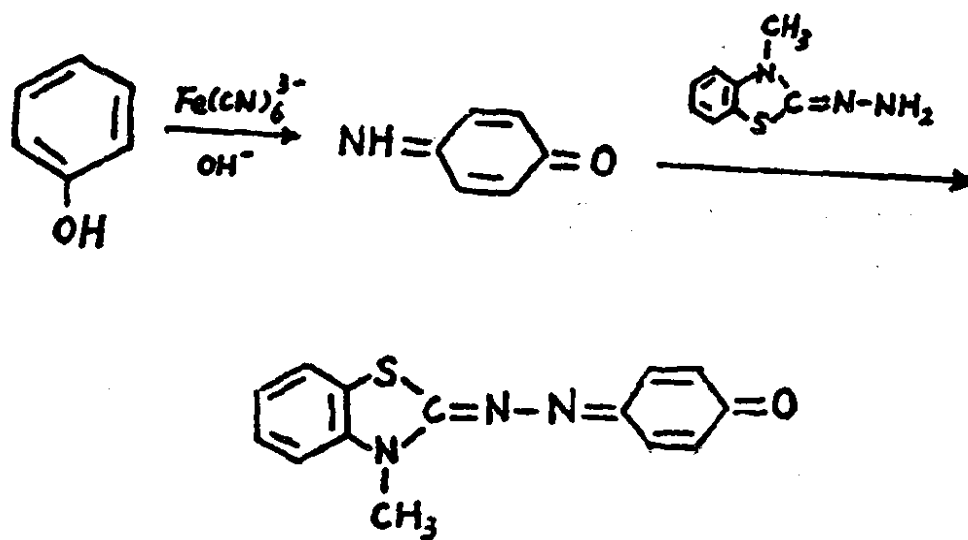
化合物	荧光峰 nm	检测限度 微克	读数50	
			样品(微克)	标准(微克/毫升)
苯酚	460	100—400	120	0.18
邻苯二酚	495	10—45	15	0.16
Gaiacol	495	10—50	20	0.24
间苯二酚	430	0.07—0.38	0.17	0.34
间苯三酚	490	2—8	3.5	0.33
对苯二酚	475	6.2—19	6.2—60	0.14—60

2. 盐酸—3—甲基—2—苯并噻唑啉—2—酮腈法⁽¹⁹⁾。

原理:

酚首先被铁氰化钾氧化成醌型产物, 再与试剂偶合成荧光产物。

反应式:



试剂:

a. 0.01% 3-甲基-2-苯并噻唑啉-2-酮醇乙醇溶液
(现用现配, 或在冰箱中保存)。

b. 0.05% 铁氰化钾半水半酒精溶液。

c. 25—28% 氨水。

操作手续:

先涂试剂a, 在红外灯下烤干, 再涂试剂b, 在没干时用氨熏, 在蓝光灯下观察, 激发峰515nm, 荧光峰592nm。

结果:

化 合 物	灵敏度(毫克/毫升)
苯酚	0.01
对氨基酚	/
邻硝基酚	/
间氨基酚	0.002
邻苯二酚	0.001
间苯二酚	0.002
3,5-二甲苯二酚	0.005
邻苯三酚	0.0005
对苯二酚	/
邻羟基联苯	0.001
邻氨基酚-吡啶	0.001
2-邻羟基苯-苯并噻吩	0.001
α -萘酚	0.0001

续表

化 合 物	灵敏度(毫克/毫升)
2-亚硝基-1-苯酚	0.01
1,3-二羟基萘	0.001
7-氨基-1-萘酚-8-磺酸	/
6-氨基-1-萘酚-8-磺酸	/
5-氨基-1-萘酚	/
β -萘酚	0.005
2,6-二羟基萘	0.005
2,7-二羟基萘	0.005
1-氨基-7-萘酚	/
1-(2-吡啶偶氮)-2-萘酚	0.01
2-羟基吡啶	/
8-羟基喹哪啶	0.0002
酚酞	0.002
麝香草酚	0.01
麝香草酚酞	/
1-苯基-2-甲基-4'-硝基苯基脲	/
4-羟苯基-4'-硝基苯基脲	/
1-苯基-2-甲基-5-羟基-8-吲哚羧酸乙酯	/
萘酚AS-BS	0.005

注意事项：

羟基对位被占据的酚无法偶合；有磺酸基致钝，则反应不灵敏。

3. 2—(4'-异氰酸苯)—6-甲基苯并噻唑法⁽²⁰⁾。

同醇类(一)、醇中4法。

(二) 酚衍生物。

1. 水杨酸酯。

A. 二甲基甲酰胺法⁽¹¹⁾。

原理：

酚的水杨酸酯在二甲基甲酰胺的碱性溶液中，其荧光比在乙醇液中增强20倍。

操作手续：

将2毫升样品用乙醇调到100毫升，然后用二甲基甲酰胺稀释100倍。取上述溶液1毫升，加入0.1毫升0.1M的氢氧化钾乙醇液，再用二甲基甲酰胺稀至10毫升，作荧光读数。激发峰366nm，荧光峰410nm，对于30—50 μ m的甲基、乙基、异丙基水杨酸酯，其标准曲线是直的。

2. 对乙酰氨基苯酚。

A. 铁氰化钾、二甲基甲酰胺法⁽²⁾。

原理：

酚用铁氰化钾氧化，然后在二甲基甲酰胺中显色；蓝—紫色荧光。

操作手续：

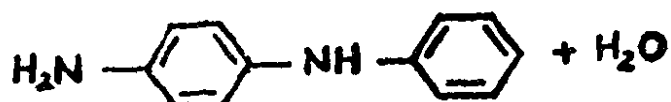
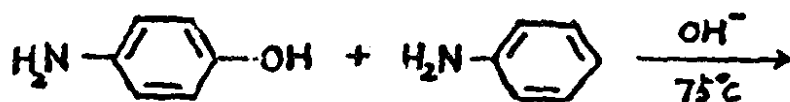
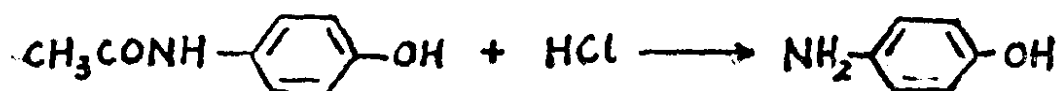
取1毫升乙酰氨基苯酚的溶液(含量约为每毫升20微克)，加入PH=8.50的0.2M硼酸—氯化钾、碳酸钠缓冲液。混合液冷却到0℃时，加入1毫升0.05%的铁氰化钾溶液。在0℃保持5分钟后，加入2毫升0.25%抗坏血酸溶液和5毫升二甲基甲酰胺溶液，生成蓝—紫色荧光。 $\lambda_{ex}337nm$ ， $\lambda_{em}425nm$ 。

B. 盐酸、苯胺法⁽¹³⁾。

原理：

乙酰氨基苯酚用盐酸水解，生成对氨基苯酚后，再与苯胺在75℃的碱性溶液中反应生成荧光产物。

反应式：



操作手续：

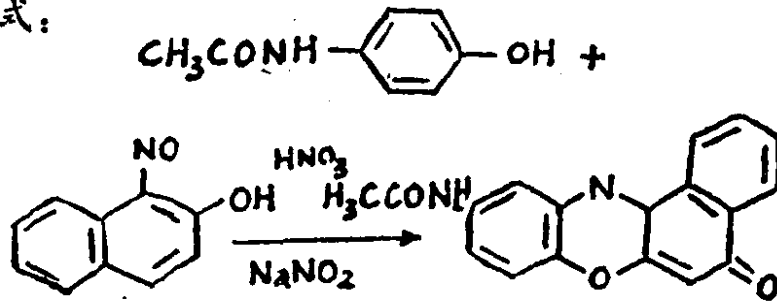
将50毫升乙酰氨基苯酚溶解在5毫升0.1N的氢氧化钠中，在其中加入5毫升盐酸，并将溶液加热煮沸60分钟。室温冷却，用水稀释至乙酰氨基苯酚的浓度相当于每毫升2微克。取这种溶液1毫升，加入PH=10.5的1毫升0.1N氨—氯化铵缓冲液和1毫升5%的苯胺盐酸溶液，混合液用2N的氢氧化钠溶液调节PH到0.5，然后在75℃加热90分钟。溶液冷却后，加入1毫升0.5N的氢氧化钾溶液，用二甲基甲酰胺稀释到20毫升，作荧光测量。 $\lambda_{\text{ex}}350\text{nm}$ ， $\lambda_{\text{em}}490\text{nm}$ 。

c. 1—亚硝基—2—萘酚法⁽¹⁴⁾。

原理：

乙酰氨基苯酚在硝酸和微量亚硝酸钠存在下，与1—亚硝基—2—萘酚反应生成10—乙酰氨基—5H—苯并吩噁嗪—5—酮，产生荧光。

反应式:



操作手续:

取1毫升样品乙醇溶液(样品量约 $10\mu\text{g}/\text{ml}$),用0.07%的1-亚硝基-2-萘酚乙醇液,1毫升0.15%亚硝酸钠溶液和1毫升硝酸处理,并在 60°C 加热80分钟,加入10毫升水和10毫升氯仿摇荡萃取1分钟,分出氯仿层。再加入0.1N氢氧化钠溶液至氯仿层中,摇荡1分钟,分离,干燥,作荧光测量。 $\lambda_{\text{ex}}467\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}552\text{nm}$ 。

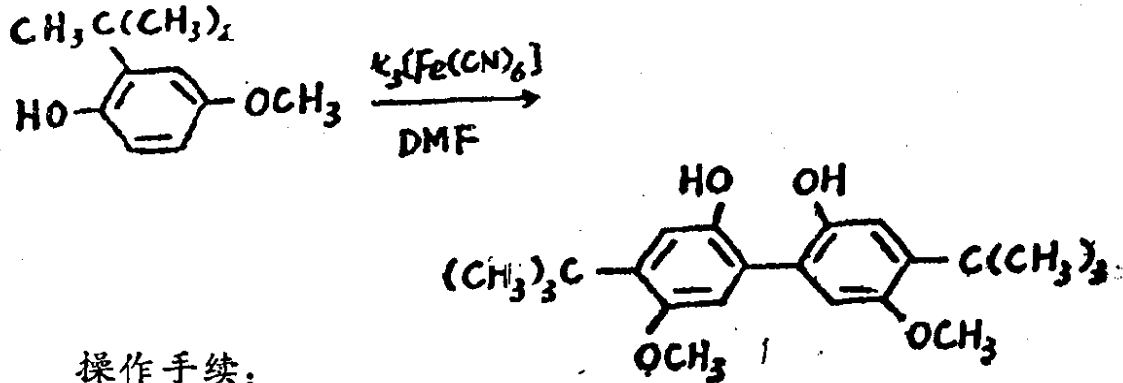
3. 丁基羟基苯甲醚⁽¹⁵⁾。

A. 铁氰化钾、二甲基甲酰胺法。

原理:

用铁氰化钾氧化,然后在二甲基甲酰胺中显出荧光。

反应式:



操作手续:

将10微克3-特丁基-4-羟基苯甲醚溶在2毫升乙醇中,加入1毫升 $\text{PH}=10$ 的缓冲溶液,再用1毫升0.5%铁氰化钾水溶液在 20°C 处理2分钟,然后再用1毫升1%的抗坏血酸处理,此混合液用10毫升含有4毫升二甲基甲酰胺的苯萃取,生成的荧光:

产物为2,2'-二羟基-5,5'-二甲氧基-3,3'-二特丁基联苯。
 $\lambda_{ex}358\text{nm}$, $\lambda_{em}440\text{nm}$ 。其灵敏度在0.05—2微克/毫升之间。

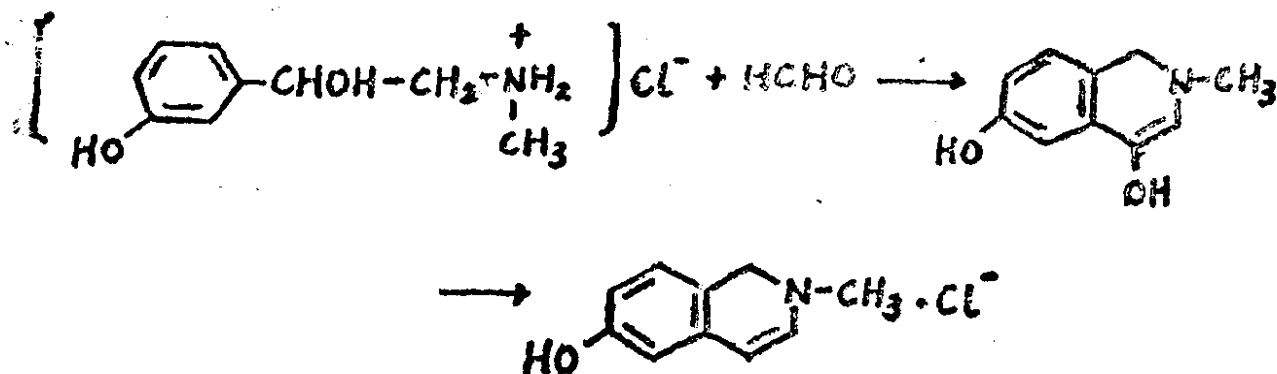
4. 苯肾上腺素⁽¹⁶⁾。

A. 甲醛、铁氰化钾法。

原理:

苯肾上腺素与甲醛缩合生成的产物4,6-二羟基-1,2,3,4-四氢异喹啉, 可以用铁氰化钾的1N氢氧化钠溶液氧化得到荧光产物6-羟基-2-甲基-异喹啉氯化物。

反应式:



操作手续:

取1毫升苯肾上腺素(2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 加入1毫升20%的甲醛, 混合液在室温下静置15分钟, 再加入5毫升1N的氢氧化钠和1毫升0.25%的铁氰化钾溶液。在室温下静置45分钟, 加入0.15%的抗坏血酸, 用甲醇将整个溶液稀至20毫升, $\lambda_{ex}370\text{nm}$, $\lambda_{em}450\text{nm}$ 。

5. 邻甲氧基苯酚甘油基醚⁽¹⁷⁾。

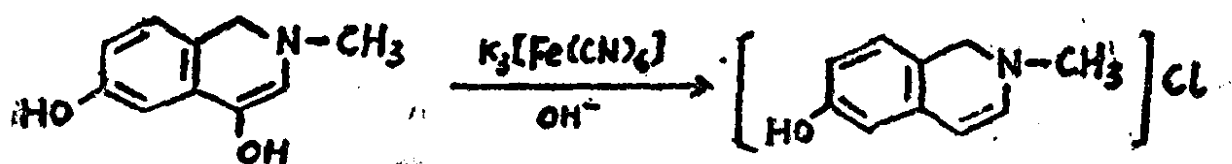
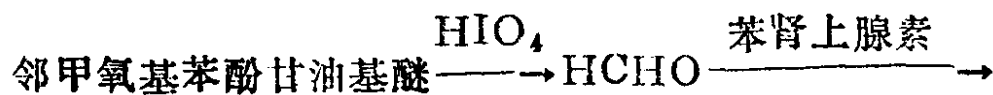
A. 过碘酸、苯肾上腺素、铁氰化钾法。

原理:

用过碘酸氧化生成甲醛, 然后与苯肾上腺素缩合成4,6-二羟基-2-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉, 再用铁氰化钾氧化得到荧光产物6-羟基-2-甲基-异喹啉氯化物。

羟基—2—甲基—1,2,3,4—四氢异喹啉，再用铁氰化钾氧化得到荧光产物6—羟基—2—甲基—异喹啉氯化物。

反应式：



操作手续：

先用高碘酸氧化生成甲醛，取1毫升甲醛样品(2μg/ml)，加入1毫升0.1N的氢氧化钠和1毫升0.01%的苯肾上腺素，混合物在80℃加热60分钟后加入1毫升2.5N氢氧化钠和1毫升0.1%的铁氰化钾，混合物再在80℃加热5分钟。冷却后，加入1毫升0.1%的抗坏血酸，并用甲醇将整个混合液的体积调到10毫升，作荧光读数。λ_{cx}370nm, λ_{em}450nm。

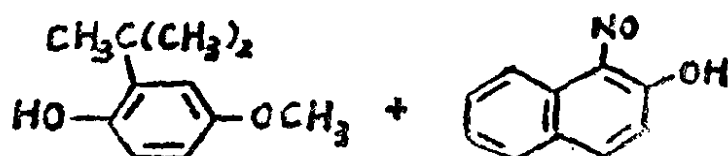
6. 2—特丁基—4—甲氧基酚⁽¹⁴⁾。

A. 1—亚硝基—2—萘酚法。

原理：

2—特丁基—4—甲氧基酚在有硝酸和微量的亚硝酸钠存在下，与1—亚硝基—2—萘酚反应，生成一种荧光产物8—特丁基—10—甲氧基—5H—苯并吩噻嗪—5—酮。

反应式：



操作手续:

同 2. C 法.

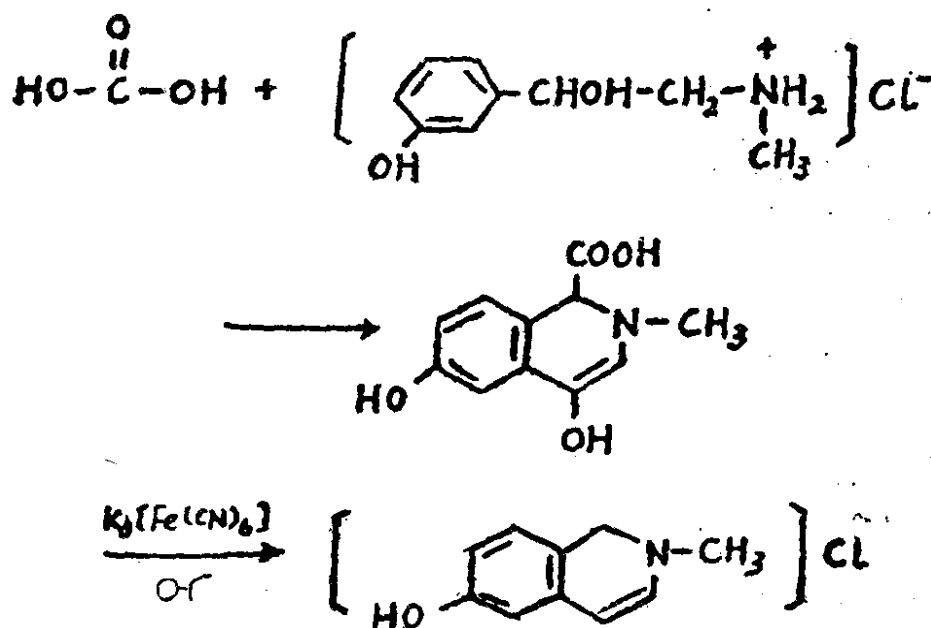
7. 水合乙醛酸⁽¹⁸⁾.

A. 苯肾上腺素法.

原理:

水合乙醛酸与苯肾上腺素缩合生成一种环状化合物 4,6-二羟基-2-甲基-1,2,3,4-四氢异喹啉-1-羧酸, 再用铁氰化钾氧化生成一种荧光产物: 6-羟基-2-甲基异喹啉盐酸盐.

反应式:



操作手续:

取 1 毫升水合乙醛酸钠盐 (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 的溶液, 加入 1 毫升 0.2N 的氢氧化钠和 0.1% 的苯肾上腺素溶液, 混合物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 加热 75 分钟, 冷却后用甲醛将混合物稀至 10 毫升, 作荧光读数, λ_{ex} 370nm, λ_{em} 450nm.

参考文献:

1. J. Bartos, M. Pesez, *Talanta*, 19, 93—124, (1972).
2. J. Bartos, *Ann. Pharm. France*, 27, 323-4, (1969).
3. F. W. Ellis, J. B. Hill, *Clin. Chem.*, 15, 91, (1969).
4. G. G. Guilbault, S. H. Sadar, *Anal. Lett.*, 2, 41, (1969).
5. J. Bartos, M. Pesez, *Talanta*, 16, 331, (1969).
6. H. Meerwein, K. Wunderlich, K. F. Zenner, *Angew. Chem.*, 74, 807, (1962).
7. J. Bartos, M. Pesez, *Bull. Soc. Chim. France*, 2333, (1963).
8. J. Bartos, M. Pesez, *Talanta*, 14(9), 1097—1108, (1967).
9. J. Bartos, M. Pesez, *Analnsis*, 7(11), 510—11, (1979).
10. E. Sawickj, R. A. Carnes, *Mikrochim. Acta*, 602—607, (1968).
11. Kaito. Tsunetoshi, *Japan Analyst*, 20(7), 801—806, (1971).
12. Kaito. Tsunetoshi, Sagara Kazuhiko, (*J. Pharm. Soc. Japan*) *Yakugaku Zasshi*, 94(5), 633—638, (1974).
13. Kaito. Tsunetoshi, *Yakugaku Zasshi*, 94

- (5), 639—644, (1974).
14. Kaito Tsunetoshi, Sagara Kazuhiko, Bunseki, Kagaku, 25(11), 776—781, (1976).
 15. Kaito Tsunetoshi, Sagara Kazuhiko, Bunseki, Kagaku, 23(12), 1494—501, (1974).
 16. Kaito. Tsunetoshi, Kasuya. Koji, Yakugaku Zasshi, 95(8), 985—91, (1975).
 17. Kaito. Tsunetoshi, Sagara. Kazuhiko, Yakugaku Zasshi, 96(11), 1327—33, (1976).
 18. Kaito. Tsunetoshi, Sagara. Kazuhiko, Yakugaku Zasshi, 97(2), 165—70, (1977).
 19. Alann. Archer, J. Chromotogr, 152, 290—292, (1978).
 20. D. Tocksteinová, J. Churáček, J. Slosar and L Skah'k, Mikrochimica Acta, 1, 507—512 (1978).

第八章 胺及含氮化合物的 荧光分析

第一节 脂族胺的荧光分析

一、概述

当8-羟基喹啉的中性水溶液和硫酸锌暴露在碱蒸气中时，生成荧光化合物8-羟基喹啉锌。胺有碱性，所以均能反应，但仅是半定量的检测。它能经过渗析或用一试试纸来进行反应。

第一胺和第二胺与4-氯-7-硝基苯并咪唑反应，生成4-烷基或二烷基-7-硝基苯并咪唑。产物发黄色荧光，检测灵敏度为0.4—4.3微克。

第一和第二烷基胺与1,2-萘醌-4-磺酸反应，生成N-烷基氨基萘醌，能被萃取至二氯甲烷中，然后醌被还原成相应的荧光物氨基二羟基萘，允许检测范围为1.3—8.5微克。

第一和第二胺与丹酰氯反应，生成强荧光物磺酰胺，能检测至0.7—3微克。

第一胺能与乙酰丙酮和甲醛缩合，生成的N-取代2,6-二甲基-3,5-二乙酰基-1,4-二氢吡啶是荧光物质，允许检测至1—2微克数量级。第一胺还能和茚三酮及苯乙醛反应，生成荧光络合物，允许检测至0.9—7.6微克。根据这一反应原理，近年来合成了新的荧光试剂荧光胺，使检测第一胺的灵敏度大大提高。第一胺也和三乙酰基苯反应生成荧光物质，检测范围为0.2—

—0.44微克。

第三胺能与乌头酸和醋酐混合物反应，显出绿色荧光，检测范围为2.3—4.5微克。

二、分析方法

(一) 脂族胺。

1. 硫酸8-羟基喹啉和硫酸锌法。

原理⁽¹⁾：

8-羟基喹啉中性水溶液与硫酸锌作用形成荧光化合物8-羟基喹啉锌，置于碱蒸气中；在紫外光照射下发黄——绿色荧光。此反应半定量。

试剂

在100毫升水中溶解0.70克中性硫酸8-羟基喹啉(Suno-xol)和0.5克硫酸锌($\cdot 5\text{H}_2\text{O}$)。然后逐滴加入0.1N氢氧化钠直至出现混浊，然后过滤。

操作手续：

微量扩散装置：用一个100毫升磨口塞锥形长颈烧瓶，在它的一半高处有三个对称的锯齿，凭此可在长颈瓶的中间固定一个2—3毫升的套管式小烧杯。在小烧杯的边上焊一根小玻璃棒，能使小烧杯容易放入或取出。

吸取1毫升试剂至烧杯中，然后将其放入长颈瓶中。吸取4毫升胺的水溶液加入长颈瓶底部，在不摇动的情况下加入3毫升约10N氢氧化钠，加入时让溶液沿着瓶壁流下，塞上瓶塞，然后成环形运动将其混匀。在室温下静置1小时。然后在紫外光下将在烧杯中溶液的荧光与从已知量的胺所得的标准物的荧光作比较。

结果：

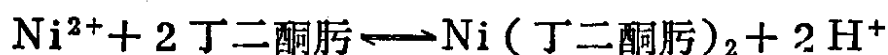
化合物	最低检测限度、微克
乙胺	210
二乙胺	50
三乙胺	45
苯胺	325
环己胺	280

注意事项：

(1) 此反应也可用在浸过试剂的纸条上进行。

(2) 8-羟基喹啉的锌络合物不溶于水而显黄——绿色荧光。镁和铝络合物也显出荧光，但颜色不太亮而且较弱。

(3) 丁二酮肟镍的饱和水溶液也可用于检测碱性化合物，由于下列平衡的改变：



形成红色沉淀⁽²⁾。

(二) 第一和第二脂族胺。

1. 4-氯-7-硝基苯并咪唑法。

(7-氯-4-硝基苯并噁二唑)

原理^(3,4)：

胺与4-氯-7-硝基苯并咪唑反应生成4-二烷基氨基-7-硝基苯并咪唑：黄色荧光。

试剂：

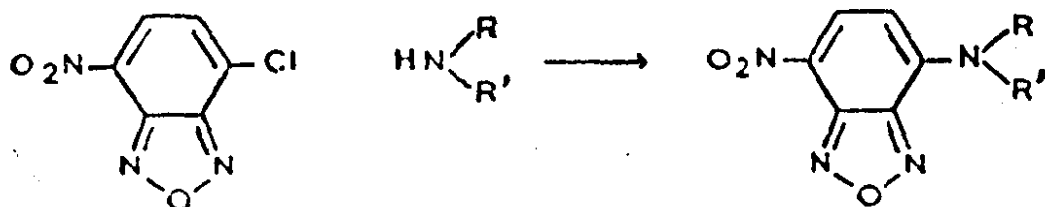
0.05% 4-氯-7-硝基苯并咪唑乙醇液。在暗处保存。

操作手续：

取1毫升样品乙醇溶液，加入0.75毫升试剂，在60℃加热30分钟，暴露在日光中。在室温下静置3分钟，然后用乙醇稀释至

4 毫升，作荧光读数， $\lambda_{ex}436nm$ ， $\lambda_{em}535nm$ 。

反应式：



标准溶液：

荧光素钠水溶液。

结果：

化合物	检测限度、微克	读数50	
		样品、微克	标准物 微克/毫升
正丙胺	0.25—1.0	0.41	0.12
正丁胺	0.25—1.0	0.45	0.12
苯胺	0.25—1.0	0.41	0.083
二乙胺	1—5	1.9	0.083
二——正丙胺	3—12	4.3	0.13
二——正丁胺	2—10	4.0	0.06

注意事项：

(1) 氨基酸也显荧光，但不成线性关系。

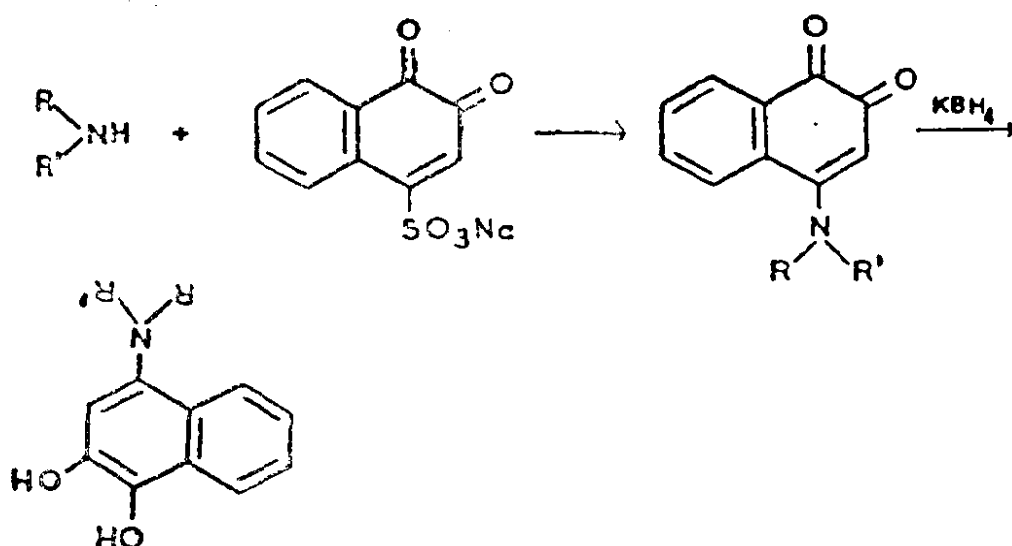
(2) 与第三脂族胺得负反应；与芳胺、酚和硫醇仅有很弱的正反应。

2. 1,2-萘醌—4-磺酸钠和硼氢化钾法。

原理⁽⁵⁾：

萘醌磺酸的磺酸基被氨基取代生成N-烷氨基萘醌，然后被还原成相应的氨基二羟基萘：蓝色荧光。

反应式：



试剂：

a. 0.5% 1,2-萘醌-4-磺酸钠水溶液，避光在0℃稳定几小时。

b. 溶解0.050克硼氢化钾于5毫升0.02N氢氧化钠中，用乙醇稀释至100毫升。

c. 用乙醇稀释0.2毫升浓盐酸至100毫升。

操作手续：

取1毫升胺的盐酸盐或游离胺用盐酸中和的水溶液，加入0.2毫升0.02N氢氧化钠和0.2毫升试剂a。在50℃加热5分钟，然后在冰水中冷却2分钟。以上操作均在暗室进行。将溶液移至含有2毫升二氯甲烷的10毫升分液漏斗中，用1毫升水清洗试管，清洗液并入分液漏斗中。摇荡约5秒钟，静置2分钟，收集全部有机层。在其中加入0.1毫升试剂b，混匀，在室温下静置2分钟，用2毫升试剂c稀释，作荧光读数。 $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{ex}410$

nm.

标准溶液:

硫酸奎宁溶于0.1N硫酸中配成的溶液。

结果:

化合物	检测限度、微克	读数50	
		样品, 微克	标准物 微克/毫升
甲胺(盐酸盐)	3—15	6.6	1.14
乙胺(盐酸盐)	1.5—7.5	3.3	1.06
正丁胺	1.4—7.0	3.0	1.25
二甲胺(盐酸盐)	0.6—3.0	1.32	1.0
二乙胺(盐酸盐)	0.6—3.0	1.32	1.06
二——正丙胺	0.6—3.0	1.28	1.11
二异丙胺	83—415	174	0.81
二——正丁胺(盐酸盐)	1—5	2.25	1.13
1N——甲基苄胺(盐酸盐)	4—20	8.5	0.88

第三胺实际上不发生反应, 但影响第一和第二胺的测定。

注意事项:

(1) 苯胺显绿色荧光(激发峰366nm, 荧光峰470nm), 但不成线性关系。然而, 根据相同的原理, 用其它的操作方法, 也能检测第一芳族胺。

(2) 氨基酸不能被检测, 因为它们的萘醌衍生物不能被萃取至二氯甲烷中。

(3) 还原醌的衍生物得到邻——二酚, 当暴露在空气中时很容易被氧化⁽⁶⁾。然而, 它在氢——饱和的反应介质中完全稳定, 因此可作精确的测定。

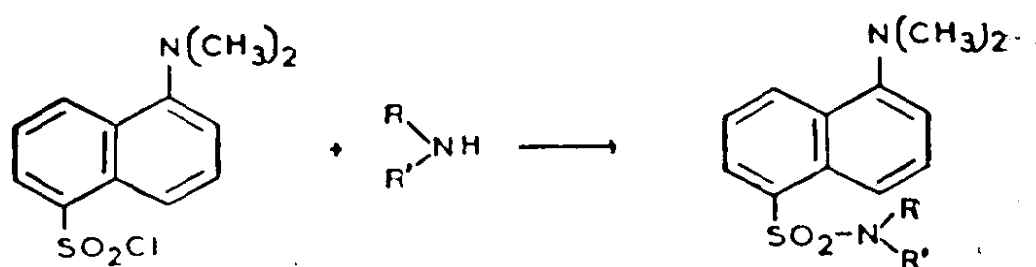
(4) 氨基化合物与1,2-萘醌-4-磺酸盐之间的反应, 见附注: 重氮偶合和重氮盐。

3. 丹酰氯法。

原理(7,8);

胺与丹酰氯(1-二甲氨基萘-5-磺酰氯)反应, 生成磺酰胺; 黄—绿色荧光。

反应式:



试剂:

- 用乙腈将1毫升0.01N氢氧化钾乙醇溶液稀释至25毫升。
- 0.05%丹酰氯丙酮溶液。

操作手续:

取1毫升样品的乙腈溶液, 加入0.2毫升试剂a和0.2毫升试剂b, 混合, 在室温于暗处静置5分钟。加入3毫升丙酮, 作荧光读数。 $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}510nm$ 。

标准溶液:

2,6-二甲基-3,5-二乙酰基-1,4-二氢吡啶的50%乙醇溶液。

结果: (见下表)

二苄胺也反应, 但反应很弱, 可能是由于位阻现象造成。试剂与200微克第一和第二芳族胺实际上得负反应。

注意事项:

(1) 丹酰氯已在蛋白质、氨基酸和胺的薄层色谱分析中

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
乙胺	0.3—1.5	0.69	6.15
正丙胺	0.4—2.0	0.90	6.35
正丁胺	0.4—2.0	0.86	5.50
苄胺	1—5	2.05	6.05
二乙胺	1—5	2.3	6.20
二—正丙胺	1.2—6.0	2.7	6.35
二—正丁胺	1.2—6.0	2.6	5.45
二苄胺	50—250	95	4.50

用作荧光标记试剂。斑点能很方便地从板上刮下，萃取，然后作荧光检测^(9,12)。

(2) 此操作方法不适用于氨基酸的检测，因为它们在反应介质中不溶解。然而当反应在有水存在的情况下进行时，由于本底荧光太强，阻碍作精确的测量。

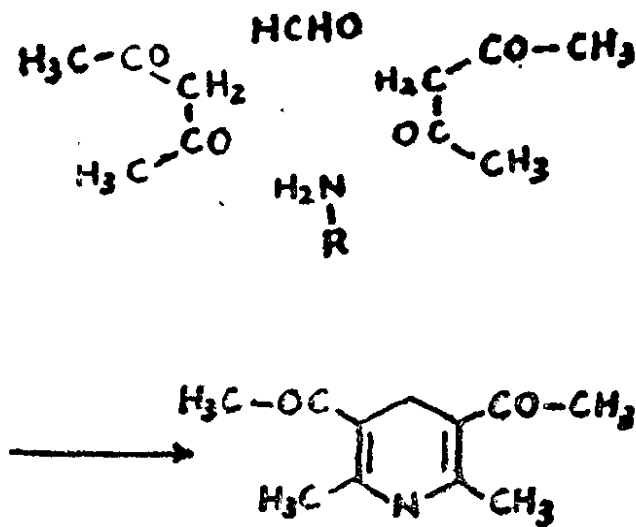
(三) 第一脂族胺。

1. 乙酰丙酮和甲醛法。

原理^(13,14)：

胺与乙酰丙酮和甲醛反应生成N—取代基2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啶：黄—绿色荧光。

反应式：



试剂:

在约5毫升水中溶解0.68克醋酸钠 ($\cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 加入0.4毫升乙酰丙酮和1毫升30%甲醛水溶液, 然后用水稀释至15毫升。现用现配。

操作手续:

取1毫升近中性的胺的水溶液, 加入0.5毫升试剂, 用木棉塞上试管, 在 100°C 精确加热10分钟, 避亮光保存。为避免结果出现误差, 水浴必须搅拌, 所有试管应严格控制在相同温度。在冰水中冷却3分钟, 然后加入2.5毫升水, 作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}405\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}510\text{nm}$ 。

标准:

2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啶乙醇溶液。

结果: (见下表)

a. 在荧光峰500nm处读数。

注意事项:

(1) 此法根据Hantzsch反应, 它可用于许多化合物的比色法和荧光法测定。

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
乙胺(盐酸盐)	1—5		
正丙胺	0.5—2.5	1.05	0.79
正丁胺(盐酸盐)	1—5	2.2	0.84
苄胺(盐酸盐)°	0.5—2.5	1.1	0.82

(2) 对于 α -氨基酸荧光法测定的应用, 见羧酸和衍生物一章。

2. 茚三酮和苯乙醛法。

原理⁽¹⁵⁾：

胺在缓冲溶液中与茚三酮和苯乙醛缩合：绿色荧光。

试剂：

- 3% 磷酸二氢钠水溶液, 用 2 N 氢氧化钠调至 PH = 8.
- 0.9% 茚三酮水溶液。
- 0.12% 苯乙醛乙醇溶液。

操作手续：

取 4 毫升缓冲液 a, 加入 0.4 毫升试剂 b, 0.2 毫升胺的水溶液, 和 0.2 毫升试剂 c, 混匀, 在 60℃ 加热 15 分钟, 在冰水中冷却 2 分钟, 再在室温下静置 10 分钟, 然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}395nm$, $\lambda_{em}485nm$ (在 405nm 处激发时也得到相同的结果)。

标准：

2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啶乙醇溶液。

结果：(见下表)

a. 溶在最小量的 0.1 N 氢氧化钠中, 用 0.1 N 盐酸中和, 然后适当稀释。

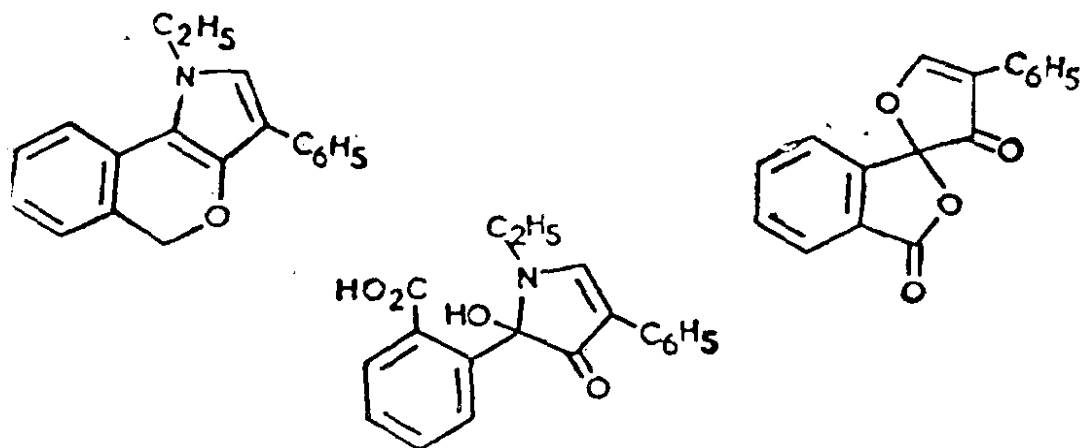
注意事项：

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
正丙胺	0.48—2.4	0.9	0.67
正丁胺	0.6—3.0	1.08	1.18
苯胺	1.2—6.0	2.3	2.18
乙醇胺	0.72—3.6	1.44	1.25
降肾上腺素	4—20	7.6	0.85
组胺(盐酸盐)	1.6—8.0	2.9	1.68

(1) 第一和第三胺不反应, 苯胺稍有正反应。

(2) 相同反应可用于荧光法检测 α -氨基酸和2-氨基-2-脱氧己糖。

(3) 近年来, weigele等(16)测定了由乙胺得到的主要荧光体组份具有结构(I), 次要的荧光体具有结构(II)。然而, 他们认为(III)是由(II)经氧化而得的产物, 而氧化剂就是过量的茚三酮。由此, 他们合成了新试剂荧光胺(III), 用于第一胺(17), 氨基酸, 多肽, 和蛋白质(18)的荧光法分析。它与氨基化合物所生成的荧光体与荧光茚三酮反应相同。



3. 邻一二乙酰基苯法.

原理(4):

胺与邻一二乙酰基苯在碱性介质中反应: 蓝色荧光.

试剂:

a. Clark和Lubs缓冲液, PH=8.6, 见附录.

b. 0.25%邻一二乙酰基苯乙醇溶液.

操作手续:

取1毫升样品(游离胺或它的盐酸盐)乙醇液, 加入0.5毫升缓冲液a和0.2毫升试剂b. 在30℃静置一小时, 在水浴中冷至室温, 用2毫升乙醇稀释后作荧光读数. $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}430nm$.

标准溶液:

硫酸奎宁溶于0.1N硫酸中配成的溶液.

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
甲胺(盐酸盐)	0.2—1.0	0.43	0.256
乙胺	0.1—0.5	0.22	0.233
乙胺(盐酸盐)	0.2—1.0	0.44	0.227
正丙胺	0.1—0.5	0.21	0.164
正丁胺	0.2—1.0	0.44	0.222

注意事项:

用邻一二乙酰基苯也可作第一芳族胺的分光光度法测定.

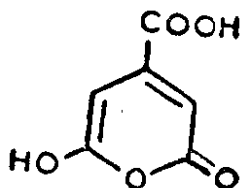
(四) 第三脂族胺.

1. 乌头酸和醋酐法.

原理⁽⁸⁾;

胺与乌头酸和醋酐的混合液反应：绿色荧光。

此荧光可能是由于胺与由乌头酸脱水⁽¹⁹⁾形成的 α, γ -乌头酸酐(IV)反应而得。



试剂:

在2.5毫升丙酮中溶解0.25克乌头酸，加入1毫升醋酐，在40℃放20分钟。冷却，加入40毫升二氯甲烷，摇荡，在冰水中冷却5分钟，过滤，用二氯甲烷稀释至50毫升。此溶剂在室温稳定几小时。

乌头酸应是无色的。如果需要的话，可从醋酸中重结晶。

操作手续:

取4毫升样品乙酸乙酯溶液，在暗处加入0.2毫升试剂，混合，在5分钟内读数。 $\lambda_{ex}405\text{nm}$, $\lambda_{em}485\text{nm}$ 。

标准溶液:

2-甲基-5-羧基-7-氨基喹啉的冰醋酸溶液。

结果: (见下表)

注意事项:

(1) 试管保持在暗处，荧光稳定约5分钟。由于激发光迅速破坏荧光，因此，只能一个一个试管进行读数。

(2) 当在0℃操作时，灵敏度稍高，而第二胺产生更稳定的荧光，但它在室温是很短暂的。

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
三乙胺	1—5	2.3	0.029
三——正丙胺	2—10	4.5	0.027
三——正丁胺	2—10	4.4	0.024

参考文献:

1. From L. Velluz and M. Pesez, *Ann. Pharm. Fr.*, 4, 10 (1946).
2. F. Feigl, *spot Tests in Organic Analysis*, Elsevier (Amsterdam), 6th Ed., 113 (1960).
3. Cf. P. B. Ghosh and M. W. Whitehouse, *Biochem. J.*, 108, 155 (1968).
4. J. Bartos and M. Pesez, *Talanta*, 19, 93 (1972).
5. M. Pesez and J. Bartos, *Ann. Pharm. Fr.*, 27, 161 (1969).
6. H. Goldstein and G. Genton, *Helv. chim. Acta*, 20, 1413 (1937).
7. Cf. N. Seiler and M. Wiechmann, *Z. Anal. Chem.*, 220, 109 (1966).
8. M. Pesez and J. Bartos, *Talanta*, 16, 331 (1969).
9. G. Weber, *Biochem. J.*, 51, 155 (1952).
10. B. S. Hartley and V. Massey, *Biochim. Biophys. Acta*, 21, 58 (1956).

11. W.R.Gray and B.S.Hartley, *Biochem. J.*, 89, 59p (1963).
12. See C.E.White and R.J.Argauer, *Fluorescence Analysis*, Marcel Dekker Inc., New York, 180—195 (1970).
13. Cf. S.Belman, *Anal. Chim. Acta*, 29, 120 (1993).
14. From M.Pesez and J.Bartos, *Talanta*, 14, 1097(1967).
15. From K.Samejina, W.Dairman, J.stone, and S.Udenfriend, *Anal. Biochem.*, 42, 237 (1971).
16. M.Weigele, J.F.Blount, J.P.Tengi, R.C. Czajkowski and W.Meimgruber, *J. Amer. chem. Soc.*, 94, 4052(1972).
17. M.Weigele, S.L.DeBernardo, J.P.Tengi and W. Leimgruber, *J. Amer. Chem. Soc.*, 94, 5927(1972).
18. S.Udenfriend, S.Stein, P.Böhlen, W.Dairman, W. Leimgruber and M. Weigele, *Science*, 178, 871(1972).
19. A.B.Groth and M. E. Dahlen, *Acta chem. Scand.*, 21, 291(1967).

第二节 芳族胺的荧光分析

一、概述

芳族胺的荧光分析法，文献报导的只有第一芳族胺。

第一芳族胺能与萘醌磺酸反应，得到的N—芳胺基萘醌，能在萃取至二氯甲烷后被还原成相应的荧光物氨基二羟基萘。此法检测范围为0.48—0.72微克。

将第一芳胺重氮化，然后与2,6—二氨基吡啶偶联。经过氧化反应，重氮化合物生成荧光物8—取代基—6—氨基吡啶并三唑，允许测定1.25—2.45微克。

用于第一芳胺比色法测定的灵敏试剂，如对二甲氨基苯甲醛和对二甲氨基肉桂醛，也能用于第一芳胺的荧光检测。对于一些芳胺，其荧光法的检测灵敏度要比比色法的灵敏度高。

二、分析方法

1. 1, 2—萘醌—4—磺酸钠和硼氢化钾法。

原理⁽¹⁾：

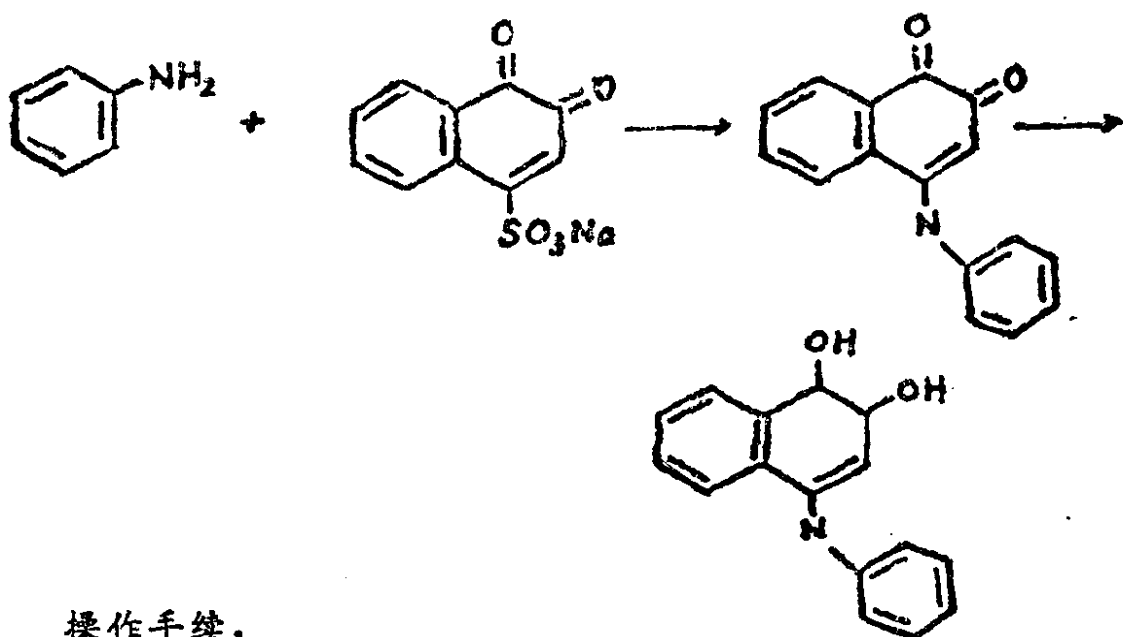
萘醌磺酸的磺酸基被氨基取代生成N—芳氨基萘醌，然后被还原成相应的氨基二羟基萘：蓝色荧光。

试剂：

a. 0.5% 1, 2—萘醌—4—磺酸钠水溶液，现用现配，在0℃避光保存。

b. 溶解0.050克硼氢化钾于1毫升0.1N氢氧化钠中，用水稀释至100毫升。

反应式：



操作手续：

取1毫升胺的中性水溶液，加入0.2毫升试剂a，混合，将溶液转移至含有2毫升二氯甲烷的10毫升分液漏斗中，用1毫升水清洗试管，然后将清洗液倒入分液漏斗中。摇荡约5秒，静置至完全分层，然后收集全部有机层。再将试管避光，加入2毫升乙醇，0.1毫升试剂b，混合，静置1分钟。加入0.5毫升0.01N盐酸，混合，并作荧光读数 $\lambda_{ex}366\text{nm}$, $\lambda_{em}470\text{nm}$ 。

标准溶液：

2, 6—二甲基—3, 5—二乙酯基—1, 4—二氢吡啶溶于1 : 49的乙醇—水中配成的溶液。

注意事项：

(1) 在芳环上有亲水性取代基的化合物，如氨基苯甲酸或磺胺，不能被测定，因为他们的萘醌衍生物在上述条件下不能被萃取至二氯甲烷中。

(2) 第二芳胺能反应，但反应很弱(5—50微克)，荧光峰为450nm。第三芳胺不反应。

(3) 按以上操作手续，与第一和第二脂族胺不反应。

结果:

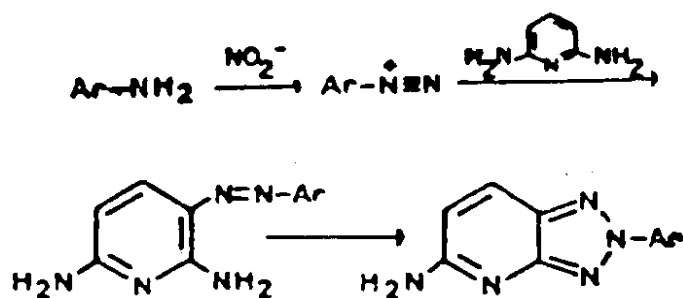
化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
苯胺	0.2—1.0	0.48	1.89
邻—甲苯胺	0.3—1.5	0.72	1.92
间—甲苯胺	0.2—1.0	0.48	1.64
对—甲苯胺	0.2—1.0	0.48	1.67
对—茴香胺	0.3—1.5	0.73	1.85
邻—氨基酚	0.2—1.0	0.48	1.82

2. 亚硝酸钠, 2, 6—二氨基吡啶和硫酸铜氨溶液法。

原理(2):

用亚硝酸将胺重氮化, 与2, 6—二氨基吡啶偶合, 然后氧化成8位被取代的6—氨基吡啶并三唑: 蓝至绿色荧光。

反应式:



试剂:

- 0.1M亚硝酸钠水溶液。
- 2%氨基磺酸胺水溶液。
- 配制PH=5的缓冲液: 用1N盐酸(约80毫升), 将400毫升1M醋酸钠水溶液调至PH=5, 然后用水稀释至1升。

取此缓冲液，溶入2,6—二氨基吡啶，浓度配成0.05%。2,6—二氨基吡啶应是无色的，如需要再次从苯中重结晶。

d. 溶解1克无水硫酸铜于10毫升7 : 3的水和氨水溶液 ($d=0.92$, $22^{\circ}\text{Be}'$) 的混合液中。

操作手续：

取2毫升样品的0.1N盐酸溶液，加入0.05毫升6N盐酸和0.3毫升试剂a。混合，在冰水中维持 0°C 10分钟。加入1毫升试剂b，混匀，静置5分钟。加入2毫升试剂C，0.4毫升1N氢氧化钠，混匀，在室温下静置20分钟。将溶液转移至25毫升分液漏斗中，用2毫升水清洗试管，将清洗液并至漏斗中。加入5毫升苯或乙酸乙酯（见结果），摇荡1分钟。弃去水层，先用 $\text{PH}=5$ 的缓冲液分两次洗，然后用6毫升水分两次洗有机相。将有机基层转移至10毫升容量瓶中，用3毫升相应的试剂清洗漏斗，清洗液合并至瓶中。在水浴上将溶剂蒸发至干（在氮气中）。将残渣溶于2毫升水中，加入0.4毫升试剂d，塞上瓶塞，在 100°C 加热35分钟。在冰上浴中迅速冷却至室温，加入0.4毫升6N盐酸，用水稀释至10毫升，静置10分钟，然后读数。

标准溶液：

根据化合物的试验（见结果），可用两种标准：

a. 七叶灵乙醇溶液。

b. 七叶灵于1 : 1乙醇—1N硫酸混合液中。

结果：（见下表）

a. B=苯，EA=乙酸乙酯。

注意事项：

此法在实际操作中可作更灵敏的检测⁽²⁾，但如低于在结果中所给的浓度，则不成线性关系。

化合物	溶剂	Ex nm	Em nm	检测限度 微克	读数50	
					样品, 微克	标准, 微克/ 毫升
苯胺	B	353	410	0.5—2.5	1.25	8.15 (a)
间——甲苯胺	B	355	415	0.7—3.5	1.75	8.15 (a)
对——茴香胺	B	365	475	1—5	2.45	1.07 (b)
对——氨基苯甲酸	EA	355	405	0.7—3.5	1.75	8.35 (a)
磺胺	EA	353	400	0.7—3.5	1.71	6.45 (a)
β ——萘胺	B	345	495	1—5	2.4	0.065 (b)

参考文献:

1. J. Bartos and M. Pesez, *Talanta*, 19, 93 (1972).
2. From L. J. Dombrowski and E. L. Pratt, *Anal. Chem.*, 43, 1042 (1971).

第三节 胍和脲的荧光分析

一、概述

在碱性介质中, 胍、单一和N, N—二取代基胍与茚三酮反应, 产物显黄绿色荧光。反应原理只部分知道。检测样品量的多少根据化合物试验而变化(1.9—28.8微克)。

胍与单取代基胍能与菲醌在碱性介质中反应, 生成产物有荧光。反应机理至今未研究清楚。

脲、单一和N, N—二取代基脲脱水成相应的碳化二亚胺, 它与2, 4, 6—三硝基苯甲酸反应, 生成未知结构的荧光产物。其灵敏度范围为0.24到2微克。根据相同原理, N, N—二取代基硫脲也能被测定: 硫脲先与氧化汞反应得到碳化二亚胺, 然后与试剂反应生成荧光产物。

二、分析方法

(一) 脲, 单一, 和N, N—双取代基脲。

1. 茚三酮法。

原理^(1,2):

脲与茚三酮在碱性介质中缩合: 黄—绿色荧光。

试剂:

0.25% 茚三酮水溶液, 存放于暗处。

操作手续:

取1毫升脲衍生物的水溶液, 加入2毫升试剂和2毫升0.5N氢氧化钠, 在19—21℃于暗处静置30分钟, 作荧光读数。激发峰405nm。

标准溶液:

2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啶乙醇溶液。

结果: (见下表)

注意事项:

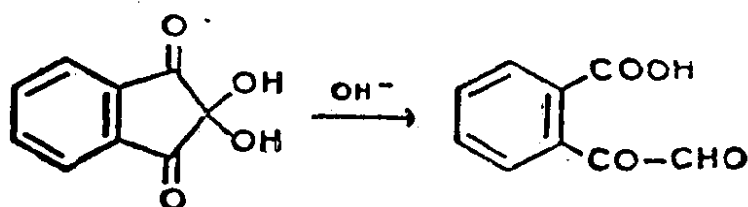
(1) 与对—氯苯脲, 磺胺脲和链霉素得很弱的正反应, 与3,4,5—三甲氧基苯甲酰脲得负反应。因为这些化合物的苯环上具有吸电子基(链霉素除外)。

(2) Conn和Davis⁽¹⁾认为, 荧光产物是希夫氏碱型的加成产物, 它是由脲的游离氨基和在碱性介质中从茚三酮(I)的五元环开环所得的邻—羧苯基乙二醛(II)⁽³⁾的醛基之间反应而得。根据Semejina等的计算⁽⁴⁾, 分析数据与脲, I

化合物	荧光峰 nm	检测限度 微克	读数50	
			样品, 微克	标准, 微克/毫升
胍(硫酸盐)	505	6—30	14.4	0.46
3,4,5-三甲基苄胍(硫酸盐)	510	12—60	28.8	0.52
Guanethidine(硫酸盐)	510	8—40	19.2	0.63
胍基醋酸	505	1.6—8.0	3.76	0.53
精氨酸	505	4—20	9.8	0.50
肌酸	505	0.8—4.0	1.92	0.44

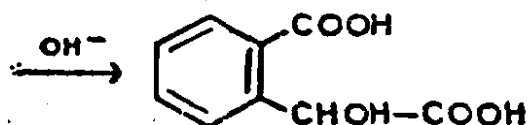
当量的邻-羟苯基乙二醛和 1 当量的羧苯基二羟醛的三元化合物的结果相符合。

邻-羧苯基乙二醛强烈吸收激发光(405nm)。然而,在碱性介质中,它慢慢转化成邻-羧苯乙醇酸(III),它是无色,无荧光,而且在激发峰处的吸收可忽略。在这些溶剂条件下,荧光产物不稳定,其反应时间和温度条件是很临界的。



(I)

(II)



(III)

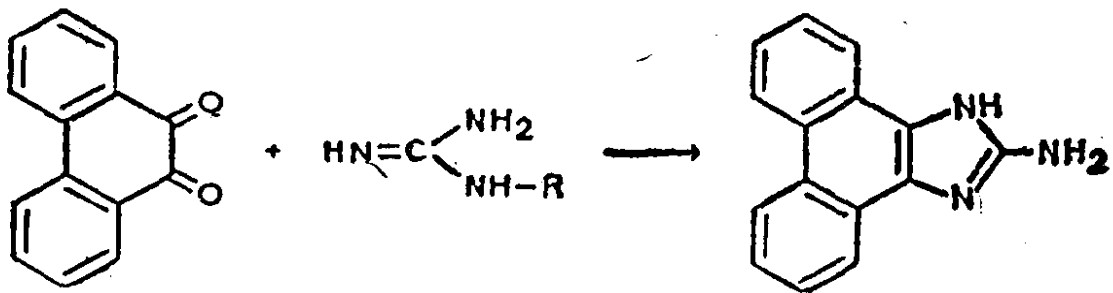
(二) 胍和单取代基胍。

1. 菲醌法。

原理(5.6)：

胍与菲醌在碱性介质中缩合生成2-氨基-1H-菲并(9,10, d)咪唑：蓝—紫色荧光。

反应式：



试剂：

0.05% 菲醌乙醇溶液。

操作手续：

取0.5毫升胍衍生物的水溶液，加入0.1毫升近似10N氢氧化钠和0.5毫升试剂。混匀，在室温下静置30分钟。加入0.25毫升浓盐酸和0.5毫升水，作荧光读数。激发峰360nm，荧光峰400nm。

标准溶液：

硫酸奎宁的0.1N硫酸溶液。

结果：(见下表)

注意事项：

(1) 在酸化和用水稀释后，溶液常常稍带混浊，但不需要过滤，因为此浓度不影响作荧光测量。

(2) 与肌酸和氯胍得负反应。

(三) 脲和单取代基脲。

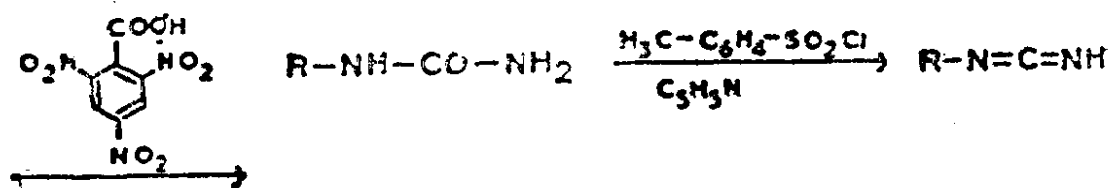
化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
胍(硫酸盐)	1.5—6.0	2.5	2.7
对—氯苯胍	37—150	63.7	2.28
3,4,5—三甲氧基苯胍 (硫酸盐)	2—10	4.2	2.2
Guanethidine(硫酸盐)	2—10	4.0	2.27
胍基醋酸	0.8—4.0	1.6	1.89
精氨酸	1.5—7.5	3.0	1.66
链霉素(硫酸盐)	15—60	22.5	2.1
双氢链霉素(硫酸盐)	16—80	32.0	1.82

1. 2,4,6—三硝基苯甲酸和对—甲苯磺酰氯法。

原理(7):

在吡啶存在下, 胍与对—甲苯磺酰氯反应, 胍脱水成相应的碳化二亚胺, 再用2,4,6—三硝基苯甲酸显色, 黄色荧光。

反应式:



荧光产物

试剂:

- 2% 2,4,6—三硝基苯甲酸丙酮溶液。用前现配。
- 将1克对—甲苯磺酰氯和0.9毫升吡啶的混合液用二氯

甲烷稀释至10毫升。用前现配。

操作手续：

将样品的二氯甲烷溶液或甲醇和二氯甲烷的混合液在60—70℃蒸发至干，然后避光将试管浸在20℃水浴中。在蒸发的残留物中，加入0.5毫升试剂a和0.1毫升试剂b，摇荡约10秒钟。静置30分钟，加入4毫升乙酸乙酯，混合，静置2分钟。在操作期间非常容易析出沉淀，不需过滤即可作荧光读数。激发峰405nm，荧光峰570nm。

避光，在20℃荧光稳定约10分钟。

标准溶液：

四碘荧光素钠的99%乙醇溶液。

结果：

化合物	检浓限度，微克	读数50	
		样品，微克	标准，微克/毫升
脲	0.2—1.0	0.44	5.6
单甲基脲	0.4—2.0	0.84	5.5
单乙基脲	0.4—2.0	0.80	6.0
硝基脲	1—5	2.0	4.4

注意事项：

(1) N, N'—二取代基脲只得到很弱的荧光。然而，它们能根据相同的原理用一些不同的操作手续来测定（见下法）。

(2) 2,4,6—三硝基苯甲酸的一些样品有较高的荧光空白，可事先用热苯洗涤来加以除去。

(3) 虽然，荧光常被苯环上的硝基熄灭，但一些三硝基化合物却显出强的黄色或橙色，有时是绿色的荧光，这是一条规

律。它们常是双胍，N-Oxiamidine，或脒基异脒，以及类似 Meisenheimer-like络合物⁽⁸⁾有关的一些化合物的间三硝基苯衍生物。碳化二亚胺与三硝基苯甲酸反应而形成的化合物的结构还未被说明。

(四) N, N'—双取代基脒。

1. 对一甲苯磺酰氯和2,4,6—三硝基苯甲酸法。

原理：

见上法，脒和单取代基脒的测定。

试剂：

a. 将1.0克对一甲苯磺酰氯和0.7毫升吡啶的混合物用二氯甲烷稀释至10毫升。用前现配。

b. 2% 2,4,6—三硝基苯甲酸丙酮溶液。用前现配。

操作手续：

将样品的二氯甲烷溶液在50℃蒸发至干。冷至室温，加入0.1毫升试剂a，静置一定时间（见结果），然后避光，加入4毫升二氯甲烷，0.5毫升试剂b，混合，作荧光读数。激发峰405nm，荧光峰570nm。

避光，在室温下荧光稳定约10分钟。

标准溶液：

四碘荧光素钠的99%乙醇溶液。

结果：

化合物	反应时间 分	检测限度 微克	读数50	
			样品, 微克	标准, 微克/毫升
N,N'—二甲基脒	10	0.1—0.5	0.24	6.0
N,N'—双环乙基脒	20	0.1—0.5	0.24	5.25
N,N'—二苄基脒	45	0.4—2.0	1.0	5.4

注意事项:

(1) 二咕吨基脲在2—10微克范围内也反应, 但得出不规律的结果。

(2) 与苯环直接与氮原子相连的N, N'—芳族二取代基脲得负反应。

(3) 单取代基脲仅得很弱的荧光。它们能如上法所叙述的那样被测定。

(4) 比较从N, N'—双环己基脲和从N, N'—双环己基碳化二亚胺所得的结果, 确定其脱水阶段几乎是定量的。

(5) 在吡啶存在下, N, N'—二取代基脲用对—甲苯磺酰氯脱水, 制取N, N'—二取代基碳化二亚胺接近工厂生产的规模⁽⁹⁾。

(6) N, N'—二取代基硫脲的测定, 见下法。

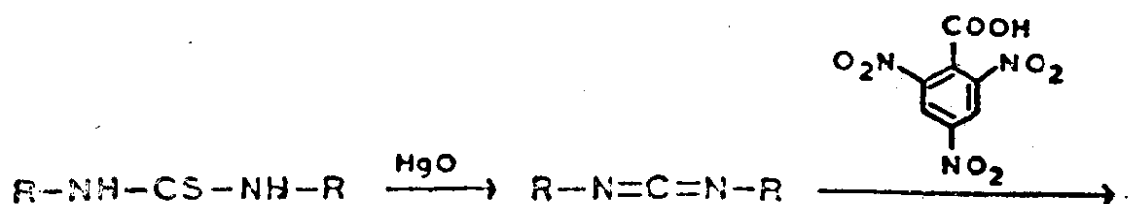
(五) N, N'—双取代基硫脲。

1. 氧化汞和2,4,6—三硝基苯甲酸法。

原理⁽⁷⁾:

脲与氧化汞反应, 生成的碳化二亚胺用2,4,6—三硝基苯甲酸显色: 黄色荧光。

反应式:



荧光产物

试剂:

0.2% 2,4,6-三硝基苯甲酸丙酮溶液。用前现配。

操作手续:

取4毫升样品二氯甲烷溶液, 加入约0.05克黄色氧化汞, 振荡约10秒钟, 静置5分钟。在不晃动下过滤, 然后避光将0.5毫升试剂加入滤液中。混匀, 作荧光读数。激发峰405nm, 荧光峰570nm。

标准溶液:

四碘荧光素钠的99%乙醇溶液。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
N,N'-双环己基硫脲	0.1—0.5	0.25	5.8
N,N'-二苄基硫脲	0.2—1.0	0.48	6.5

注意事项:

(1) 与苯环直接连于氮原子的N, N'-芳族二取代基硫脲(二一对一甲苯基硫脲)以及与硫脲本身实际得负反应。

(2) N, N'-二取代基硫脲用氧化汞脱硫制取相应的碳化二亚胺接近预备生产规模⁽¹⁰⁾。

(3) 脲, 单取代基脲, 和N, N'-二取代基脲的荧光法测定上面已有介绍。

参考文献:

1. Cf. R. B. Conn, Jr. and R. B. Davis., Nature. 183, 1053 (1959).

2. K. Beyermann and H. Wisser, *Z. Anal. Chem.*, 245, 311 (1969).
3. S. Ruhemann, *J. Chem. Soc.*, 97, 2025(1970).
4. K. Samejina, W. Dairman and S. Udenfriend, *Anal. Biochem.*, 42, 222 (1971).
5. Cf. S. Yamada and H. A. Itano, *Biochem. Biophys. Acta*, 130, 538 (1966).
6. J. Bartos and M. Pesez, *Talanta*, 19, 93 (1972).
7. J. Bartos, *Ann. Pharm. Fr.*, 28, 321 (1970).
8. Cf. J. Bartos, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 3694(1965).
9. G. Amiard and R. Heymes, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1360 (1956).
10. E. Schmidt, F. Hitzler and E. Lahde, *Ber.*, 71, 1933 (1938).

第四节 各种含氮衍生物的荧光分析

一、单一和N, N—二取代基胍

1,2—萘醌—4—磺酸钠法。

原理⁽¹⁾：

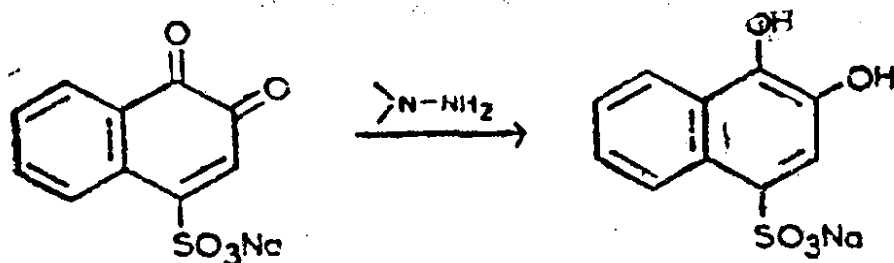
1,2—萘醌—4—磺酸盐被胍还原成1,2—二羟基萘—4—磺酸盐：蓝—绿色荧光。

试剂：

a. 缓冲溶液：混合等体积的2.72%磷酸二氢钾水溶液和5.36%磷酸氢二钠($\cdot 7\text{H}_2\text{O}$)水溶液。

b. 0.02% 1,2—萘醌—4—磺酸钠的0.1N盐酸溶液。用前现配。

反应式:



操作手续:

将样品溶于缓冲溶液a中, 取4毫升, 加入0.4毫升试剂b。静置5分钟, 然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}340nm$, $\lambda_{ex}470nm$ 。

标准溶液:

2,6—二甲基—3,5—二乙酯基—1,4—二氢吡啶溶液于97:3的水和无水乙醇混合液中。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
甲基胂	0.04—0.2	0.074	2.12
N, N—二甲基胂	0.08—0.4	0.16	1.78
苯胂(二盐酸盐)	0.2—1.0	0.36	2.27
苯胂	0.4—2.0	0.76	3.9
N, N—二苯胂(盐酸盐)	1.6—8.0	3.12	1.05

二, 脂族2—硝基—1—羟基化合物

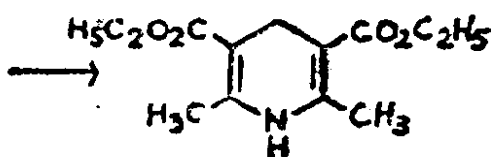
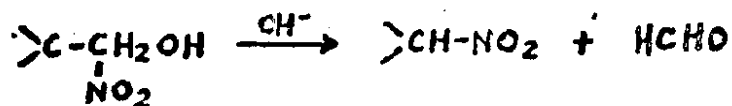
氢氧化钠、乙酰乙酸乙酯和醋酸铵法。

原理(2):

化合物在碱性溶液中分解, 生成的甲醛用乙酰乙酸乙酯和氨

显色：蓝色荧光。

反应式：



试剂：

2%乙酰乙酸乙酯的20%醋酸铵水溶液。

操作手续：

取1毫升硝基羟基化合物的水溶液，加入1毫升0.5N氢氧化钠。在室温下静置5分钟，加入1毫升1N盐酸和1毫升试剂。在60℃加热20分钟，然后在冰水中冷至室温，作荧光读数。
 $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}470nm$ 。

标准溶液：

2,6-二甲基-3,5-二乙酯基-1,4-二氢吡啶溶于99:1的水和乙醇混合液中。

结果：

化合物	检测限 度微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/ 毫升
2-硝基-1-丁醇	2-10	4.0	0.94
2-硝基-2-甲基-1,3-丙二醇	1-5	2.1	1.09
2-硝基-2-乙基-1,3-丙二醇	1-5	2.2	1.07

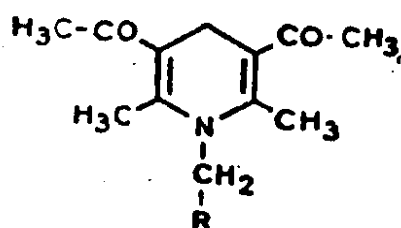
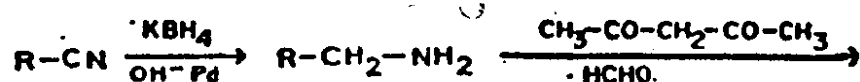
三、腈

1. 硼氢化钾、乙酰丙酮和甲醛法。

原理(2)：

在含有钯的碱性介质中被硼氢化物还原成第一胺，生成的胺再用乙酰丙酮和甲醛显色：黄——绿色荧光。

反应式：



试剂：

a. 0.2% 硼氢化钾的 1 N 氢氧化钠溶液。

b. 0.5% 氯化钯水溶液。

c. 取 10 毫升 1 M 醋酸钠水溶液，加入 0.8 毫升乙酰丙酮和 2 毫升 30% 甲醛水溶液，然后用 1 M 醋酸钠稀释至 30 毫升。用前现配。

操作手续：

将样品溶于水和乙醇的混合溶液中（溶剂比例随被测定的化合物而变），取 1 毫升，加入 1 毫升试剂 a 和 0.05 毫升试剂 b。在室温下静置 10 分钟，加入 1 毫升 2 N 盐酸，混合，让氢释放完，然后加入 2 毫升 1 M 醋酸钠水溶液和 2 毫升试剂 c。在 100℃ 加热 10 分钟，冷却，过滤，作荧光读数。λ_{ex}405nm, λ_{em}490nm。

标准溶液:

2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啶乙醇溶液。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
苯腈	2—10	4.0	3.12
苯乙腈	3—15	6.0	3.03

与腈反应不能得到令人满意的结果, 因为在反应中, 得到的是可挥发性的胺, 如乙腈。

注意事项:

(1) 硼氢化钾水溶液很不稳定, 但将此化合物溶解于微碱性介质中能大大阻止氢的产生。一些金属盐能催化由此得到的稳定溶液的分解和影响PH值。伴随着此反应能形成金属的暗色悬浮物或它的硼化物。在上述操作手续中, 钡沉淀能催化硼氢化物的分解和硝基化合物的还原。

(2) 用乙酰丙酮和甲醛作第一脂族胺的荧光分析法测定, 见脂族胺的荧光分析。

参考文献:

1. From M. Roth and J. Rieder, Anal. Chim. Acta, 27, 20 (1962).
2. M. Pesez and J. Bartos, Talanta, 14, 1097(1967).

第五节 含氮杂环化合物的荧光分析

一、吡啶衍生物

过氧化氢和甲醛法。

原理⁽¹⁾：

吡啶衍生物在过氧化氢存在下于酸性介质中与甲醛反应：黄——橙黄色荧光。

试剂：

- a. 0.00015%过氧化氢水溶液（0.0005体积的氧）。
- b. 3%甲醛水溶液。

操作手续：

将样品溶于1 : 1的乙醇和冰醋酸的混合液中，取0.5毫升，加入0.1毫升试剂a，0.1毫升试剂b，和0.6毫升65%氯酸。用木棉塞住试管，避光，在60℃加热1小时，然后在冰水中冷却2分钟。加入4毫升冰醋酸作荧光读数。激发峰436nm，荧光峰540nm。

结果：（见下页）

标准：

硫酸奎宁溶于0.1N硫酸中所配成的溶液。

注意事项：

吡啶不能产生令人满意的结果。

二、吡啶衍生物

溴化氰和对氨基苯甲酸法。

原理⁽²⁾：

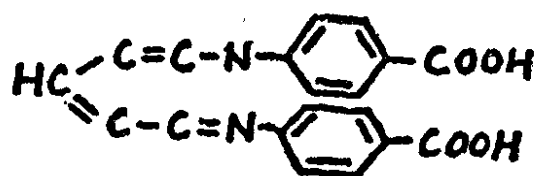
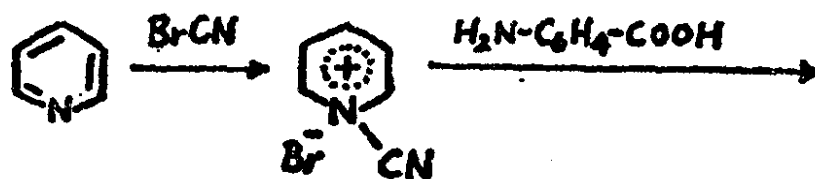
吡啶衍生物用溴化氰处理后，与对氨基苯甲酸反应生成希夫

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
吲哚-3-羧酸*	0.5-2.5	1.2	0.09
吲哚-3-乙酸	2-10	4.8	2.63
色胺	1-5	2.3	0.74
色胺酸	1-5	2.3	0.76
N-乙酰基色胺酸	2-10	4.7	1.19

• 蓝色荧光。入ex366nm, 入em490nm

吡啶类型的亚氨基衍生物: 黄绿色荧光。

反应式:



试剂:

a. 10% 醋酸钠 ($\cdot 3 \text{H}_2\text{O}$) 水溶液。

b. 溴化氰溶液: 取40毫升10%氰化钾水溶液, 加入5毫升冰醋酸, 然后加入40毫升含有3.0克溴酸钾和4.0克溴化钾的水溶液(溶解时微热)。将此混合液保持在20℃水浴中, 边搅拌边逐滴加入4毫升浓硫酸, 然后用水稀释至100毫升。此试剂稳定一天。

c. 0.2%对氨基苯甲酸的乙醇溶液。

操作手续：

取1毫升吡啉衍生物的水溶液，加入2毫升试剂a，0.3毫升试剂b，1毫升丙酮，和1毫升试剂c。每种试剂加入时混合好，在室温下静置一定时间（见结果），然后作荧光读数。激发峰436nm。

结果：

化合物	反应时间分钟	Em, nm	检测限度, 微克	读数50	
				样品, 微克	标准, 微克/毫升
吡啉	20	515	0.2—1.0	0.44	0.82
3-吡啉醛	45	510	1.5—7.5	3.2	0.76
菸酸	10	505	2.5-12.5	5.5	0.75
菸酰胺	45	510	2—10	4.5	0.80
N,N-二乙基菸酰胺	90	515	0.2—1.0	0.45	0.58
ISoniazid*	30	480	5—25	11.0	0.62

标准：

2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啉的乙醇溶液。

• 蓝色荧光, $\lambda_{ex} 366nm$

标准：在0.7毫升乙醇中溶解2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啉，然后稀释至100毫升（用水稀释）。

3—吡啉甲醇也反应，但很弱；与4—羟基吡啉不反应。

注意事项：

(1) 在杂氮原子的 α —位有取代基的化合物不反应。

(2) 对氨基水杨酸可用于代替对氨基苯甲酸，但灵敏度较低。

三、吩噻嗪衍生物

高锰酸钾法。

原理⁽³⁾：

在高锰酸离子反应的基础上，显出紫外荧光。

试剂：

0.0001%高锰酸钾的0.2N硫酸溶液。

操作手续：

取0.5毫升样品乙醇溶液，加入1毫升试剂和2.5毫升0.2N硫酸，混合，静置30分钟后作荧光读数。 $\lambda_{ex}310\text{nm}$ ， $\lambda_{em}380\text{nm}$ 。

标准：

原儿茶酸液于PH=8.9的Clark和Lubs缓冲溶液中（见附录）。

结果：

化合物	检测限度，微克	读数50	
		样品，微克	标准，微克/毫升
吩噻嗪	0.6—3.0	1.25	0.025
氯丙嗪（盐酸盐）	0.8—4.0	1.60	0.020
Promethazine（盐酸盐）	0.8—4.0	1.60	0.020

注意事项：

（1）吩噻嗪衍生物常常显出荧光峰在450—475nm范围内的天然荧光。在氧化的基础上，荧光迁移至短波，而灵敏度增加。

（2）过氧化氢也能用作氧化剂。

参考文献:

1. M.Pesez and J.Bartos, *Talanta*, 16, 331 (1969).
2. J.Bartos, *Ann.Pharm.Fr.*, 29, 71 (1971).
3. From T.J.Mellinger and C.E.Keeler, *Anal. Chem.*, 35, 554 (1963); 36, 1840 (1964).

第九章 羧酸、羰基化合物的 荧光分析

第一节 羧酸的荧光分析

一、概述

有机酸的荧光分析方法，有直接荧光测定和间接荧光分析法两种，其检测波长、灵敏度和所需试剂列于下表中。

表9-1有机酸的荧光分析

酸	试剂,PH或方法	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
乙酸	间苯二酚—盐酸	330	440	0.1
腺(嘌呤核)苷酸	PH 1	285	395	0.07
邻氨基苯甲酸	PH 7	300	405	0.001
抗坏血酸	二羟基萘磺酸	360	465	0.01
柠檬酸	盐酸吩噻甲吡胺	365	440	10
	氨, 乙酸酐—吡啶	475	525	10
3,4—二羟基苯乙酸	PH 7	280	300	0.04
没食子酸	硫酸铜	紫外	绿色	10
赤霉酸	硫酸	405	465	5
胍基乙酸	茚三酮	305	495	0.5
		390		

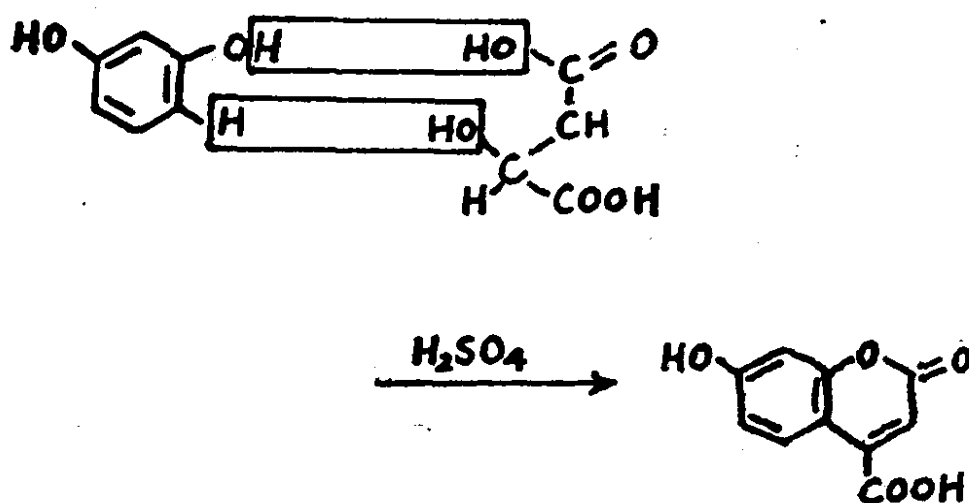
续表

酸	试剂,PH或方法	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
尿黑酸	PH 7	290	340	0.02
高香草酸	PH 7	270	315	0.2
	高锰酸钾	315	420	0.01
3-羟基氨基苊酸	PH 7	320	415	0.001
5-羟基氨基苊酸	PH 7	340	430	0.001
间羟基苯甲酸	PH 12	314	430	1
对羟基肉桂酸	PH 7	350	440	0.02
对羟基扁桃酸	PH 7	300	380	0.006
对羟基苯乙酸	PH 7	380	410	0.03
对羟基苯丙酮酸	PH 7	290	340	0.1
吡啶乙酸	PH 7	285	360	0.001
犬尿喹啉酸	PH 7	325	405	0.003
	PH 11	325	440	0.005
苹果酸	2-萘酚	357	441	0.1
	间苯二酚	365	485	0.01
茶乙酸	PH 11	282	327	0.02
草酸	熄灭荧光	360	460	0.1
丙酮酸	NAD	360	485	0.1
水杨酸	PH 11	310	435	0.01
癸二酸	间苯二酚	365	430	1
琥珀酸	间苯二酚	470	绿色	0.01
对苯二甲酸	转化成胺	364	438	0.1

续表

酸	试剂, PH或方法	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (ppm)
巯基乙酸	萘醌	365	蓝白色	0.3
胸苷酸	溴, 邻氨基苯甲醛	365	420	0.02
尿酸	PH11	325	370	0.7
黄尿酸	PH11	350	460	0.005

对于分析聚羧酸类, 最通用的方法是让它们与间苯二酚缩合, 生成荧光产物。例如, 苹果酸与间苯二酚缩合, 生成4-羧酸鞣形酮, 反应式如下:



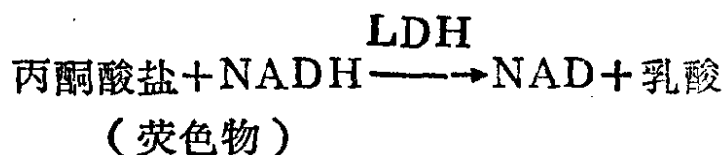
各种羧酸与间苯二酚缩合, 能产生不同的荧光颜色和强度, 结果如下表(表9-2)。

有人使用苔黑酚(3,5-二羟基甲苯)代替间苯二酚来检测苹果酸, 特别是在其它三羧酸中间体存在下测定苹果酸。缩合产物为7-羟基-5-甲基香豆素, 它在强酸溶液中具有很亮的蓝色荧光。

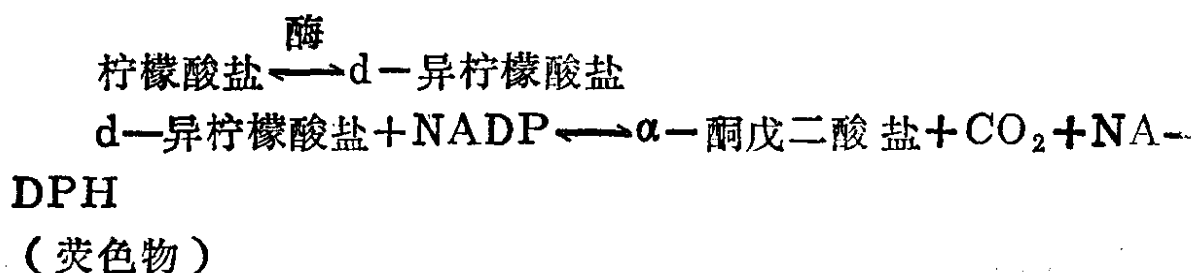
表9-2 间苯二酚羧酸的荧光

酸	荧光颜色	荧光强度
富马酸	蓝紫色	24
α -氧代戊二酸	蓝绿色	35
丁酮二酸	蓝绿色	12
琥珀酸	黄绿色	20
苹果酸	蓝紫色	22
异柠檬酸	淡蓝色	58
柠檬酸	天蓝色	89

Lowry等曾用乳酸脱氢酶(LDH)和NADH来检测丙酮酸, 检测步骤为:

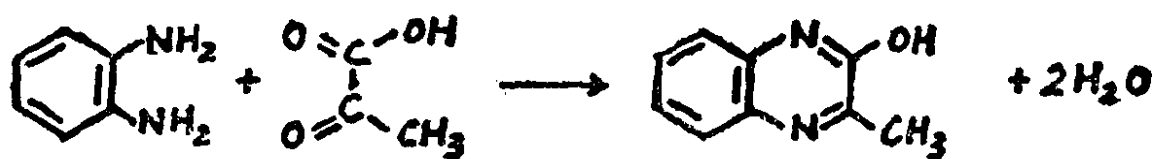


柠檬酸的检测方法与上述方法相似:



上述反应分别用乌头酸酶和异柠檬酸脱氢酶来催化, 生成的NADPH可用荧光法测定。

α -酮酸可与邻苯二胺缩合, 反应产物为喹啉衍生物, 它是稳定的并具有强荧光。其反应式为:



此法可检测0.05至2.0微克酮酸，结果如下表。

表9-3喹啉类衍生物的荧光特性

α -酮酸	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	相对荧光强度
二羟乙酸	338	518	16
α -丁酮酸	365	495	69
α -己酮酸	365	498	66
α -氧代戊二酸	360	503	90
α -酮异己酸	365	500	83
α -酮异戊酸	367	500	56
草醋酸	368	498	23
苯丙酮酸	368	503	25
丙酮酸	360	490	100

二、分析方法

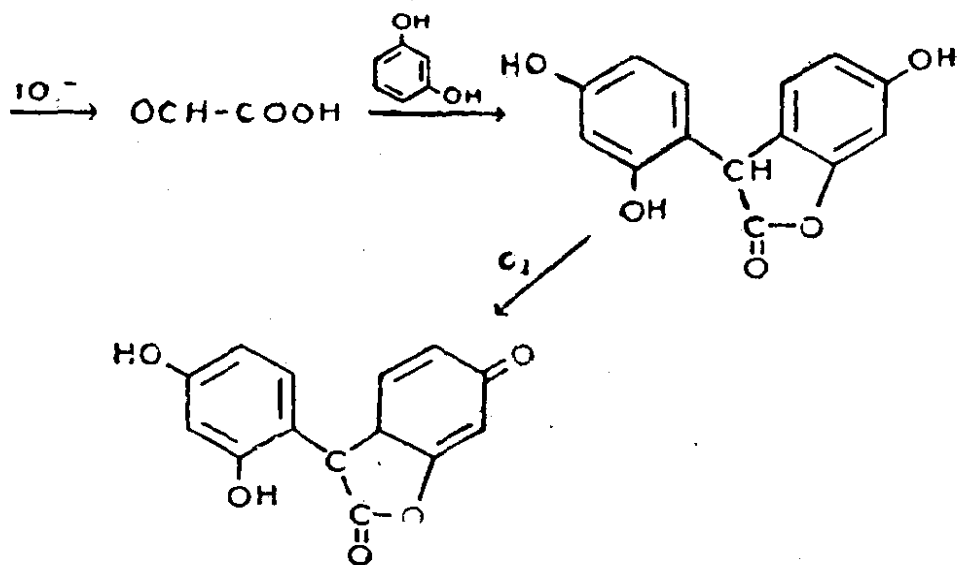
(一) 2,3-二羟基-1-羧酸。

偏高碘酸钠和间苯二酚法。

原理(1)：

用高碘酸离子氧化，形成的水合乙醛酸与间苯二酚在酸性介质中反应，生成2,2',4,4'-四羟基二苯基乙酸的内酯，它被空气中的氧所氧化生成醌型衍生物：黄—绿色荧光。

反应式:



试剂:

a. 0.05M偏高碘酸钠的水溶液, 用1N氢氧化钠调到PH=10.

b. 0.1N亚砷酸钾水溶液(1升溶液中含4.945克氧化亚砷, 75毫升1N氢氧化钾和40.0克碳酸氢钾)。

c. 取50毫升0.1N硝酸银, 加入5毫升1N氢氧化钠。让沉淀完全, 倾去上层清液, 用倾泌法水洗沉淀, 将沉淀溶于1N硫酸中, 用此酸稀释至150毫升。

d. 2%间苯二酚水溶液。

e. 碳酸氢钾饱和水溶液。

操作手续:

取1毫升酸的中性水溶液, 加入0.2毫升试剂a, 在室温下静置15分钟, 加入0.5毫升试剂b以破坏过量的高碘酸盐, 在室温下

静置20分钟，加入0.3毫升试剂c至沉淀的碘酸盐中，混合，加入1毫升水，过滤。取1毫升滤液，加入1毫升浓盐酸和0.5毫升试剂d，在60°C加热20分钟，在水浴中冷至室温，一边摇动一边缓慢地加入5毫升试剂e，在60°C加热15分钟。冷却至室温。然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}436nm$ ， $\lambda_{em}530nm$ 。

标准溶液：

荧光素钠水溶液。

结果：

化合物	检测限度，微克	读数50	
		样品，微克	标准，微克/毫升
酒石酸	1.0—5.0	2.1	0.13
粘酸	1.0—5.0	2.3	0.076

己糖醛酸也能被检测。

注意事项：

几种化合物经过适宜的化学反应后产生水合乙醛酸。它是有选择性地及容易地从草酸被铝汞齐或锌——铜混合物⁽²⁾还原得到，或从二氯乙酸被胍脱卤得到⁽³⁾，以及从乙酸被高碘酸离子和过氧化氢氧化得到⁽⁴⁾。

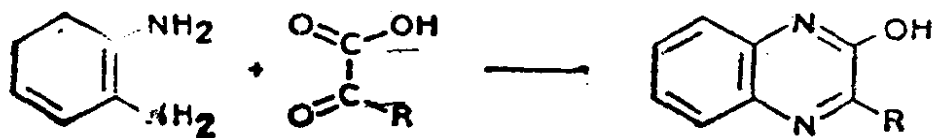
(二) α -酮酸。

邻苯二胺法。

原理⁽⁵⁾：

在硫酸介质中， α -酮酸与邻苯二胺缩合生成羟基喹啉啉。绿——绿黄色荧光。

反应式：



试剂:

在100毫升2 N硫酸中溶解0.010克邻苯二胺。

操作手续:

取1.5毫升样品的2 N硫酸溶液, 加入1.5毫升试剂。在试管上装上空气冷凝管, 在100°C加热1小时。在冰水中冷却5分钟, 然后加入1.5毫升浓硫酸。在激发峰366nm处读数。

标准溶液:

2-羟基-3-甲基喹啉于50%硫酸中配成的溶液。

结果:

化合物	λ_{em} (nm)	检测限度 (微克)	读数50	
			样品, 微克	标准, 微克
水合乙醛酸	520	1.0—5.0	1.9	0.27
丙酮酸钠	490	0.4—2.0	0.85	0.30
α -氧化戊二酸	505	1.0—5.0	2.0	0.36
草醋酸	500	1.0—5.0	2.2	0.56

注意事项:

邻苯二胺也可用于 β -二酮的比色法测定。

参考文献:

1. M.Pesez and J.Bartos, *Talanta*, 14, 1097 (1967).
2. M.Pesez, *Bull.soc.Chim.Fr.*, [5] 3, 676, 2072 (1936); *J.Pharm.Chim.*, [9] 2, 325 (1942).
3. M.Pesez, *Ann.Pharm.Fr.*, 9, 187 (1951).
4. M.Pesez and J.Ferrero, *Ann.Pharm.Fr.*, 14, 558 (1956).
5. J.E.Spikner and J.C.Towne, *Anal.Chem.*, 34, 1468 (1962).

第二节 氨基酸的荧光分析

一、概述

氨基酸与人们的生活有密切关系,对氨基酸的研究已越来越引起各方面的关注。氨基酸的荧光分析方法很多,这里不可能都作详细介绍。综合起来,氨基酸的荧光分析方法可分成以下七类。

1. 利用苯乙醛和茚三酮与氨基酸反应,得到荧光产物。
2. 利用荧光胺与氨基酸反应,得到荧光产物。
3. 邻苯二醛和巯基乙醇的方法。
4. 与吡哆醛缩合后再和锌离子作用的方法。
5. 氨基酸能熄灭曙红的荧光,从而建立了荧光熄灭方法。
6. 使用其它荧光试剂。它们有:丹酰氯, 1-氟-2,4-

二硝基苯, 7,7,8,8-四氰基喹啉二甲烷, 1-磺酰基-5-二丁基氨基萘, 异硫代氰酸荧光素, α -亚硝基- β -萘酚, 7-氯-4-硝基苯-2-氧-1,3-二唑, 盐酸硫胺素, 甲醛及过氧化氢等。

7. 直接荧光测定。

一些重要的氨基酸的荧光分析数据, 列于表9-4中。

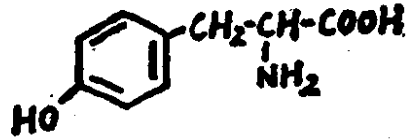
表9-4 氨基酸和它们的荧光特性

氨基酸	方法	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	灵敏度 (微克/毫升)
精氨酸	茚三酮	305 390	495	0.3
二羟基苯丙氨酸	三羟基吲哚	365	495	0.01
组氨酸	邻苯二醛	340	480	0.01
苯丙氨酸	直接, 水	260	282	0.1
色氨酸	直接, PH11	287	348	0.003
酪氨酸	直接, PH7	280	310	0.01
	α -亚硝基- β -萘酚	460	570	0.005

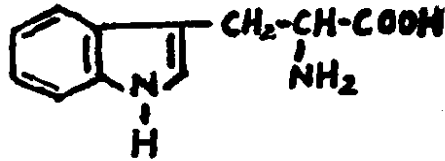
在以上这些氨基酸中, 苯丙氨酸, 酪氨酸和色氨酸具有足够的荧光强度, 可在溶液中直接被检测。它们的相对荧光强度分别为0.5、9和100。这三种氨基酸的荧光特性, 证实了它们的结构与荧光强度的关系。苯丙氨酸具有一个苯环和一个—CH₂—支链, 荧光很弱; 酪氨酸的苯环上增加了一个羟基, 荧光强度增强了20倍; 色氨酸增加了一个吲哚环, 荧光强度增加了200倍。它们的结构式如下:



苯丙氨酸



酪氨酸



色氨酸

二、分析方法

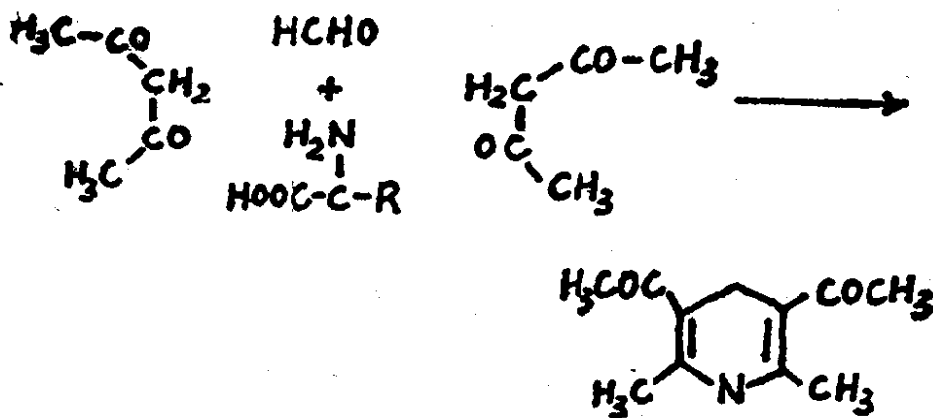
这里只介绍三种最常用的方法。

1. 乙酰丙酮和甲醛法。

原理(1、2)：

氨基酸与乙酰丙酮和甲醛反应生成N—取代基2,6—二甲基—3,5—二乙酰基—1,4—二氢吡啶：黄——绿色荧光。

反应式：



试剂：

取10毫升1 M醋酸钠水溶液，加入0.4毫升乙酰丙酮和1毫

升30%甲醛水溶液，用水稀释至30毫升。用前现配。

操作手续：

取1毫升氨基酸的水溶液，加入1毫升试剂，用棉花塞住试管，避光在100°C加热10分钟，在冰水中冷却，加入2毫升水，作荧光读数。 $\lambda_{ex}405nm$ 。

标准溶液：

2-甲基-5-羧基-7-氨基喹啉的冰醋酸溶液。

结果：

化合物	荧光峰 (nm)	检测限度, 微克	读数50	
			样品, 微克	标准, 微克/ 毫升
甘氨酸	485	2-10	4.5	0.042
苯丙氨酸	490	8-40	17.2	0.044
丝氨酸	485	5-25	10.0	0.032
半胱氨酸(盐酸盐)	500	20-100	38.0	0.040
谷氨酸	485	20-100	43.0	0.035

2. 邻苯二甲醛和2-巯基乙醇法。

原理⁽³⁾：

在2-巯基乙醇存在下， α -氨基酸与邻苯二醛缩合：蓝色荧光。

试剂：

1%邻苯二甲醛的乙醇溶液，在暗处存放。用前，将0.5毫升此溶液加至30毫升PH=9.5的缓冲溶液中，然后加入0.5毫升0.5% 2-巯基乙醇的乙醇溶液。

PH=9.5的缓冲溶液：用2N氢氧化钠调节0.05M四硼酸钠($\cdot 10H_2O$)至PH=9.5。

操作手续：

取 1 毫升氨基酸的水溶液，加入 2 毫升试剂，混合，作荧光读数。 $\lambda_{ex}340nm$ ， $\lambda_{em}455nm$ 。

标准溶液：

硫酸奎宁于 0.1N 硫酸中配成的溶液。

结果：

化合物	检测限度，微克
甘氨酸	0.2—1.0
α -丙氨酸	0.2—1.0
亮氨酸	0.2—1.0
丝氨酸	0.2—1.0
苏氨酸	0.2—1.0
谷酰胺	0.2—1.0
胱氨酸（盐酸盐）*	0.4—2.0
精氨酸	0.4—2.0
组氨酸	0.3—1.5

* 使用 PH = 7.0 的 Teorell 和 Stenhagen 缓冲溶液（见附录）代替 PH = 9.5 的缓冲溶液，并在读数前静置 5 分钟。

与肌氨酸和半胱氨酸反应的灵敏度很低。

注意事项：

（1）此反应机理至今未知。根据我们的经验，2-巯基乙醇可能不参与反应，仅作还原剂。

（2）由于空白几乎是无荧光的，因此可作更灵敏的测定，但低于 0.2 微克的限度，不能保持线性关系。

3. 茚三酮和苯乙醛法。

原理和操作手续:

见第一脂族胺的荧光分析法测定。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
甘氨酸	0.3—1.5	0.57	1.00
亮氨酸	1.6—8.0	3.0	1.56
丝氨酸	1.0—5.0	1.9	0.71
胱氨酸(盐酸盐)	1.4—7.0	2.8	1.56
酪氨酸	1.4—7.0	2.65	1.07
多巴	12—60	22.2	1.12

参考文献:

1. Cf. E. Sawicki and R. A. Carnes, *Anal. Chim. Acta*, 41, 178 (1968).
2. M. Pesez and J. Bartos, *Talanta*, 16, 331 (1969).
3. M. Roth, *Anal. Chem.*, 43, 880 (1971).

第三节 羰基化合物的荧光分析

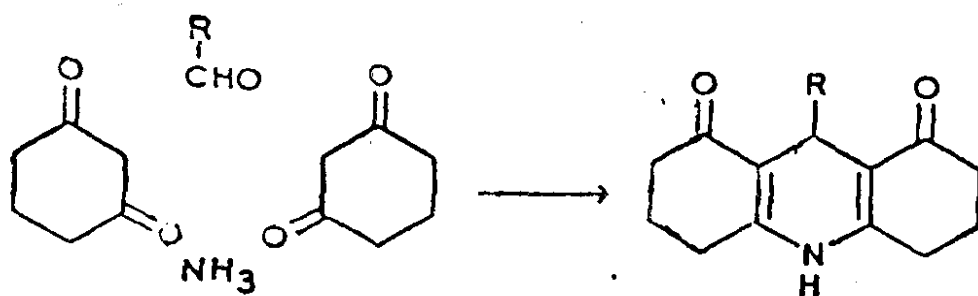
一、脂族醛

环己烷—1,3—二酮和醋酸铵法。

原理⁽¹⁾:

醛与环己烷—1,3—二酮和氨反应生成一种9—取代基—十氢吡啶—1,8—二酮：在酸性介质中显蓝色荧光，在碱性介质中显黄—绿色荧光。

反应式：



试剂：

0.25克环己烷—1,3—二酮，10克醋酸铵和5毫升冰醋酸溶解在80毫升水中，并用水稀释至100毫升。

操作手续：

取3毫升醛的水溶液，加入1毫升试剂，在60°C加热1小时，于冰水中冷却2分钟，然后，或者加入1毫升水（蓝色荧光），或者加入1毫升10N氢氧化钠（黄绿色荧光）。作荧光读数。在酸性介质中，激发峰366nm，荧光峰470nm；在碱性介质中， λ_{ex} 436nm， λ_{em} 520nm。

标准溶液：

对于蓝色荧光，使用十氢吡啶—1,8—二酮溶在1：49乙醇和水的混合液中，对于黄绿色荧光，使用十氢吡啶—1,8—二酮溶在49：1的2N氢氧化钠和乙醇的混合液中。

结果：

在酸性介质中反应:

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
甲醛	0.5—2.5	1.0	0.51
乙醛	0.2—1.0	0.44	0.56
丙醛	0.3—1.5	0.62	0.44
丁醛	0.6—3.0	1.2	0.47

在碱性介质中反应:

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
甲醛	0.5—2.5	1.0	0.51
乙醛	0.2—1.0	0.45	0.80
丙醛	0.2—1.0	0.38	0.51
丁醛	0.5—2.5	1.0	0.60

注意事项:

(1) 异丁醛、柠檬醛、乙二醛和水合乙醛酸能反应, 但很弱。在酸性介质中苯甲醛可在2—10微克范围内被测定, λ_{em} 455nm。与香草醛反应没有荧光出现。

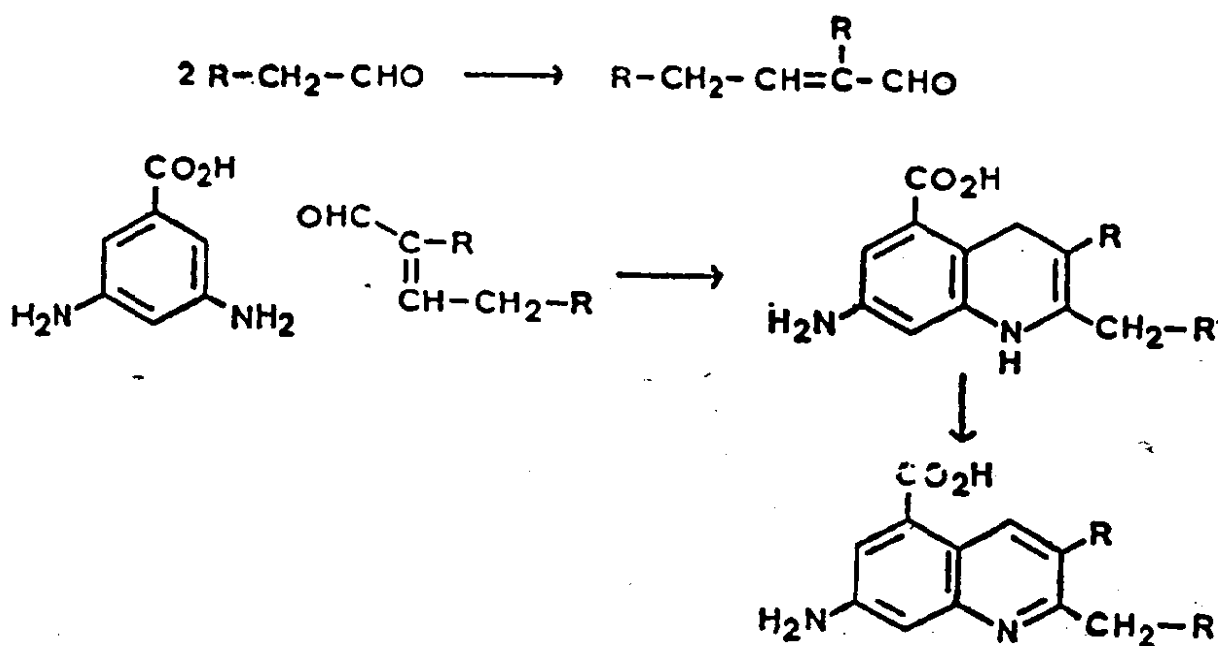
(2) 此法根据Hantzsch反应, 它可用于许多化合物的分光光度法和荧光分析法测定。

二、 α -亚甲醛

3,5-二氨基苯甲酸的二盐酸盐法。

原理^(1,2)：

在磷酸介质中，醛与3,5-二氨基苯甲酸反应生成2,3-二烷基-5-羧基-7-氨基喹啉：黄绿色荧光。



试剂：

2克3,5-二氨基苯甲酸的二盐酸盐溶在10毫升磷酸中($d = 1.62$)，用水稀释到20毫升。

操作手续：

取2毫升醛的水溶液，加入2毫升试剂，避亮光在 $50^\circ C$ 加热30分钟。冷却到室温并加入2毫升水，作荧光读数。 $\lambda_{ex} 405 \text{ nm}$, $\lambda_{em} 495 \text{ nm}$ 。

标准溶液：

2-甲基-5-羧基-7-氨基喹啉的10%醋酸溶液。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
乙醛	2—10	5.7	0.31
丙醛	2—10	5.7	0.23
丁醛	2—10	5.7	0.19

注意事项:

(1) 此法可用于荧光分析法测定由在辅羧酶或硫胺素三磷酸(TTP)⁽³⁾的存在下, 用发面酵母洗丙酮酸, 使在酶催化下脱羧而形成的乙醛, 以及琥珀半缩醛⁽⁴⁾。

(2) 2-脱氧糖也能用同样的试剂进行荧光分析法测定。

(3) 这个反应是根据醌衍生物的Doebner—Miller合成提出的⁽⁵⁾。它的反应机理已被许多文献所总结⁽⁶⁾。普遍认为该反应中包含醛醇缩合和丁间醇醛脱水生成一种 α 、 β -不饱和的醛, 然后与芳香族胺发生Michael加成反应。取代的二氢喹啉转化形成相应的喹啉, 它可以在分子间反应生成1分子的喹啉和1分子的四氢衍生物。

近来Forrest等人⁽⁷⁾, 用苯胺和乙醛在氧化的介质中试验, 说明不需生成一种中间体丁烯醛。然而Doebner—Miller合成反应的机理至今还没有完全明确的解释。

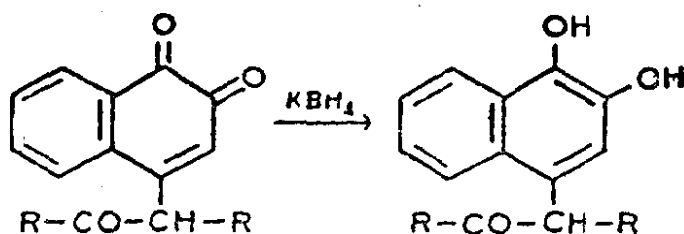
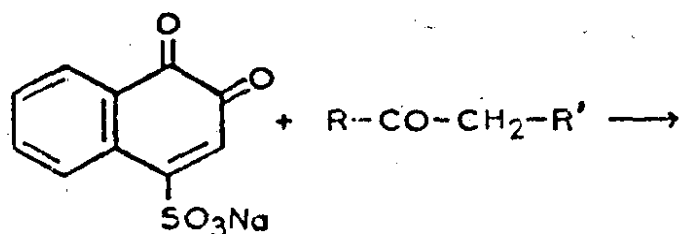
三、二烷基 α -亚甲酮

1,2-萘醌—4-磺酸钠和硼氢化钾法。

原理⁽⁸⁾:

萘醌磺酸的磺酸基被活泼的亚甲基取代, 然后还原成相应的二羟基萘; 蓝—绿色荧光。

反应式:



试剂:

a. 1,2-萘醌-4-磺酸钠溶在0.2N的氢氧化钠中, 配成0.05%的溶液。用前现配。

b. 硼氢化钾溶在0.2N的氢氧化钠中, 配成0.5%的溶液。用前现配。

操作手续:

避光操作。取0.5毫升酮的水溶液, 加入0.5毫升试剂a, 用木棉塞住试管, 在 $50^{\circ}C$ 加热20分钟。冰水中冷却2分钟, 加入0.1毫升试剂b, 混合, 静置2分钟。加入0.1毫升2N的盐酸, 静置2分钟, 再加入2毫升预先冷却好的10N氢氧化钠。直接读数。

标准溶液:

十氢吡啶-1,8-二酮溶在49:1的2N氢氧化钠和乙醇的混合液中。

结果:

化合物	λ_{ex} nm	λ_{em} nm	检测限度 微克	读数50	
				样品, (微克)	标准, 微克 /毫升
丙酮	405	520	5—25	8.5	0.32
甲乙酮	436	530	0.5—2.0	0.85	0.18
甲基异丁酮	436	520	6—30	12.0	0.082
乙酰乙酸乙酯	436	520	1.6—8.0	2.9	0.088

与乙酰丙酮反应不呈线性关系。

注意事项:

- (1) 与醛也反应, 灵敏度较低, 但符合线性关系。
- (2) 苯乙酮, 环戊酮, 环己酮和甾酮不生成荧光产物。
- (3) 用环己酮与醌得到的加成产物的荧光, 在没有预先还原前也可进行测定。操作如下:

用浓度为0.02%的试剂a, 加热后并冷却, 直接加入3毫升预先冷却的10N氢氧化钠, 作荧光读数。 $\lambda_{ex}366\text{nm}$, $\lambda_{em}455\text{nm}$ 。在10—50微克范围内成线性关系, 读数50相当于20微克的酮和0.33微克/毫升+氢吡啶二酮的标准溶液。与环戊酮反应不呈线性关系。

参考文献:

1. M. Pesez and J. Bartos, *Talanta*, 14, 1097 (1967).
2. Cf. L. velluz, M. Pesez and G. Amiard, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, [5] 15, 680 (1948);
L. Vel-luz, M. Pesez and M. Herbain,

- Bull. Soc. Chim.
Fr., [5] 15, 681 (1948).
3. L. Velluz, G. Amiard and J. Bartos, J. Biol. Chem. 180, 1137 (1949).
 4. R. A. Salvador and R. W. Albers, J. Biol. Chem., 234, 922 (1959).
 5. O. Doebner and W. Von Miller, Ber., 16, 2464 (1883).
 6. Cf. F. W. Bergstrom, Chem. Rev., 35, 153 (1944); G. M. Badger, H. P. Crocker, B. C. Ennis, J. A. Gayler, W. E. Matthews, W. G. C. Raper, E. L. Samuel and T. W. Spotswood, Australian J. Chem., 16, 814 (1963).
 7. T. P. Forrest, G. A. Dauphinee and W. F. Miles, Can. J. Chem. 47, 2121 (1969).
 8. J. Bartos, Ann. Pharm. Fr., 27, 691 (1969).

第十章 其它有机化合物的荧光分析

第一节 不饱和化合物的荧光分析

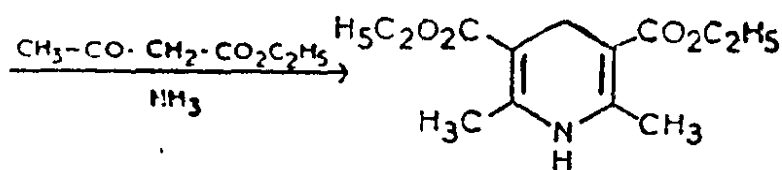
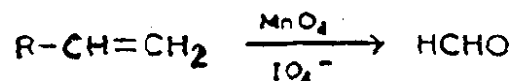
一、R-CH=CH₂型烯烃化合物

1. 高锰酸钾、偏高碘酸钠、乙酰乙酸乙酯和醋酸铵法。

原理⁽¹⁾：

用高锰酸盐和高碘酸盐离子氧化，形成的甲醛用乙酰乙酸乙酯和氨显色：蓝色荧光。

反应式：



试剂：

- 0.05N偏高碘酸钠水溶液。
- 0.005N高锰酸钾水溶液。
- 0.1N亚砷酸钾水溶液（1升溶液中含有4.945克的三氧化二砷，75毫升1N的氢氧化钾和40.0克的碳酸氢钾）。
- 乙酰醋酸乙酯溶在20%的醋酸铵水溶液中，配成2%的

溶液。

操作手续：

取 1 毫升样品的吡啶溶液，加入 4 毫升水，1 毫升试剂 a 和 1 毫升试剂 b。在室温下静置 30 分钟，加入 2 毫升试剂 c，混合，并加入 2 毫升试剂 d。在 60℃ 加热 20 分钟，在冰水中冷却到室温。作荧光读数， $\lambda_{ex}366nm$ ， $\lambda_{em}470nm$ 。

标准：

2,6-二甲基-3,5-二乙酯基-1,4-二氢吡啶溶在 97 : 3 的水和乙醇混合液中。

结果：

化 合 物	检 测 范 围 微克	读 数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
苯乙烯	4—20	7.2	2.55
烯丙醇	2—10	3.5	2.24
奎宁	10—50	16	1.97

参考文献：

1. M. Pesez and J. Bartos, *Talanta*, 14, 1097 (1967)。

第二节 偕—聚卤化合物和巯基化合物的荧光分析

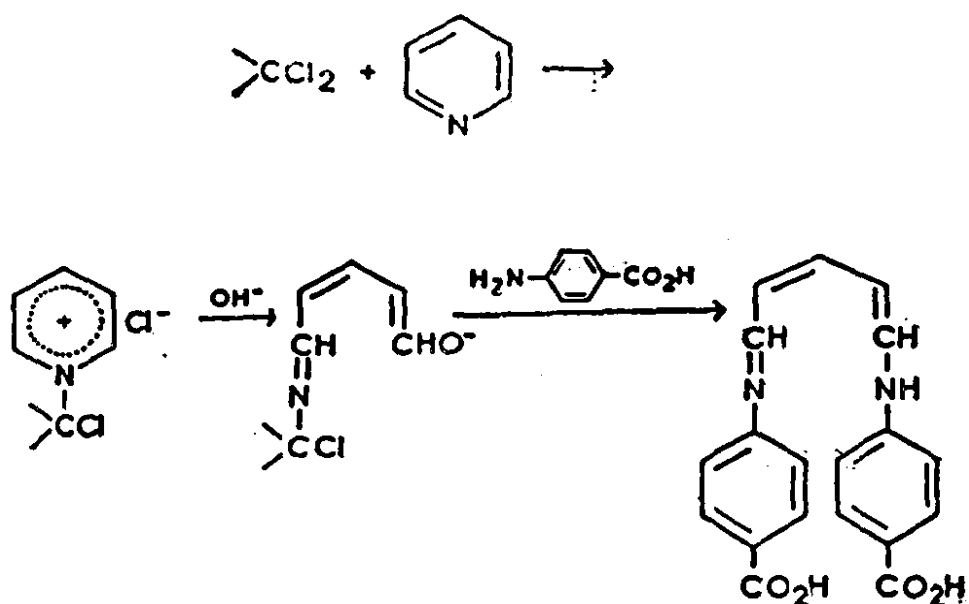
一、偕—聚卤化合物

吡啶和对—氨基苯甲酸法。

原理⁽¹⁾：

在碱性介质中基于与偕二聚卤化合物反应，吡啶环开环，然后用对氨基苯甲酸显色：在紫外光下荧光不可见。

反应式：



试剂：

- 吡啶，预先提纯。
- 3%对氨基苯甲酸的乙醇溶液。

操作手续：

对1毫升样品的吡啶a溶液，加入1毫升1N氢氧化钠。混合好，在100℃加热3分钟，在冰水中冷却，加入1.5毫升1N盐酸和1毫升试剂b。在室温下静置一定的时间（见结果），然后读数， $\lambda_{ex}436nm$ ， $\lambda_{em}550nm$ 。

标准：

2,6-二甲基-3,5-二乙酰基-1,4-二氢吡啶的乙醇溶液。

结果：

化 合 物	反应时间, 分钟	检测限度, 微克	读 数 50	
			样品, 微克	标准, 微克/毫升
氯 仿	20	0.5—2.5	1.1	0.92
碘 仿	30	1.2—6.0	2.5	0.85
三氯乙烯 ^a	40	1.0—5.0	1.6	0.94
均一四氯乙烷 ^b	30	1.0—5.0	2.7	1.00
三氯乙醇	40	1.6—8.0	3.6	0.92
氯醛合水	30	0.6—3.0	1.32	0.91
三氯乙酸	30	0.64—3.2	1.47	0.89

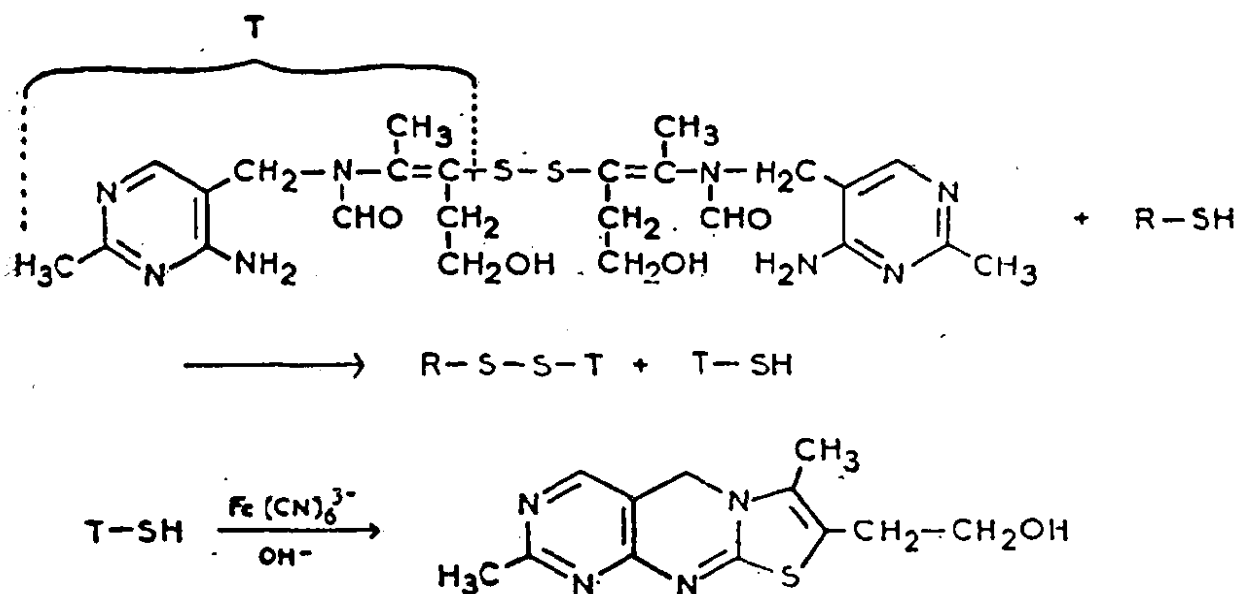
a. 不能满意地遵循比尔定律。

b. 低至2微克能保持线性关系。

二、巯基化合物

硫胺素二硫化物和铁氰化钾法。

原理^(2,3)：



还原硫胺素二硫化物，生成的硫胺素巯基化合物以硫色素的形式显色：蓝色荧光。

试剂：

a. PH=7.8—8.0的缓冲溶液：150毫升0.5M磷酸氢二钾水溶液和12毫升0.5M磷酸二氢钾水溶液混合。

b. 0.05MEDTA水溶液。

c. 0.141%硫胺素二硫化物的水溶液。

d. 氯化钾溶于0.1N盐酸中，配成25%的溶液。

e. 将12.5毫升1%铁氰化钾水溶液用15%氢氧化钠稀释至100毫升。用前现配。

操作手续：

取1毫升巯基化合物的水溶液，加入2毫升缓冲溶液a，1毫升试剂b，和1毫升试剂c，在30℃放置20分钟。吸取此混合溶液1毫升整，在其中加入5毫升试剂d和3毫升试剂e。静置2分钟，加入13毫升异丁醇，摇荡90秒钟，允许进行相分离。收集有机相，如混浊则在无水硫酸镁上干燥。然后作荧光读数。 λ_{ex} 366nm, λ_{em} 435nm。

标准：

硫酸奎宁的0.1N硫酸溶液。

结果：

化合物	检测限度 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
苯硫酚	11—55	25	5.77
巯基醋酸	9—45	17	1.38
半胱氨酸	12—60	18	0.90

考 参 文 献:

1. J. Bartos, Ann. Pharm. Fr., 29, 221(1971).
2. Cf. O. Zima, K. Ritsert and T. Moll, Z. Physiol. Chem., 267, 210(1941).
3. K. Kohno, J. Vitaminol. (Japan), 12, 137(1966).

第三节 糖和衍生物的荧光分析

一、醛糖

盐酸和间苯二酚法。

原理⁽¹⁾;

醛糖在酸性介质中脱水生成糠醛(戊糖)或5-羟基-甲基糠醛(己糖),再与间苯二酚缩合生成可推测的咕吨酮衍生物:绿色(戊糖)或蓝色(己糖)荧光。

试剂:

0.05克间苯二酚溶解在20毫升2:1浓盐酸和水的混合液中。

操作手续:

取1毫升醛糖的水溶液,加入1毫升浓盐酸,用空气冷凝管装在试管上,在100℃加热1小时,于冰水中冷却5分钟,加入0.5毫升试剂和2.5毫升浓盐酸,在100℃加热10分钟,再在冰水中冷却5分钟。用百里酚蓝作指示剂调节PH约为8.6,加入3.5毫升10N的氢氧化钠,然后逐滴加入碱溶液,在点滴板上试验PH值。用水稀释到15毫升,然后读数。

戊糖: $\lambda_{ex}436nm$, $\lambda_{em}510nm$ 。标准: 2,6-二甲基-3,5-二乙酯基-1,4-二氢吡啶溶在50%的乙醇溶液中。

己糖: $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}427nm$ 。标准: 硫酸奎宁溶在0.1N的硫酸中。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
阿拉伯糖	4—12	5.3	1.0
来苏糖	2—6	2.7	1.12
核糖	2—10	3.8	0.86
木糖	2—10	4.0	1.17
半乳糖	4—20	8.4	0.25
葡糖	2—10	3.8	0.25
甘露糖	4—20	8.6	0.42

注意事项:

与酮糖(果糖和山梨糖)作用没有荧光产生。

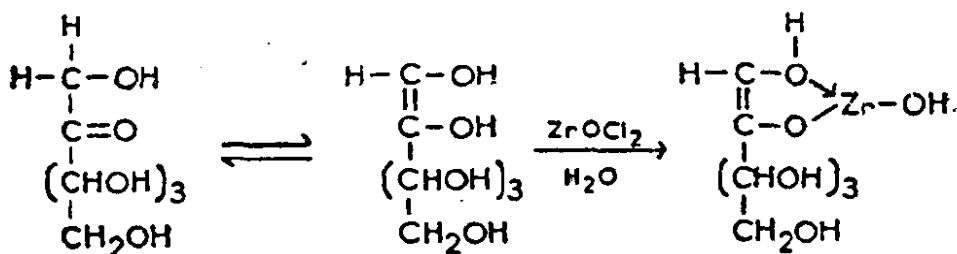
二、酮糖

三氯化氧锆法。

原理⁽²⁾:

生成螯合物: 蓝色荧光。

反应式:



试剂:

0.1% 三氯化氧锆水溶液。

操作手续：

取1毫升酮糖的水溶液，加入0.7毫升0.01N盐酸和0.5毫升试剂，混合好，加入2毫升水。在70℃加热1小时，于冰水中冷却2分钟，作荧光读数。 $\lambda_{ex}345nm$ ， $\lambda_{em}400nm$ 。

标准：

硫酸奎宁溶解在0.1N的硫酸中。

结果：

化合物	检测限度， 微克	读数 50	
		样品，微克	标准，微克/毫升
果糖	6—24	9.3	0.115
山梨糖	6—30	12.9	0.071

注意事项

在上述条件下，核糖，葡糖和2—脱氧核糖也能反应，但显出的荧光很弱。

三、戊 糖

盐酸、环己烷—1,3—二酮和醋酸铵法。

原理⁽³⁾：

在酸性介质中脱水生成糠醛，生成的醛再用环己烷—1,3—二酮和氨显色：黄绿色荧光。

试剂：

a. 缓冲溶液：10克无水醋酸钠和10毫升冰醋酸的混合液，用水稀释到50毫升。

b. 环己烷—1,3—二酮溶在40%醋酸铵水溶液中，配成0.25%的溶液。用前现配。

操作手续：

取1毫升戊糖的水溶液，加入1毫升浓盐酸，用空气冷凝管装在试管上，在100℃加热1小时。冷却，然后用酚酞作指示剂调节PH值；加入1毫升10N氢氧化钠，然后逐滴加入碱溶液，在点滴板上试验PH值。加入1毫升缓冲液a和1毫升试剂b，在60℃加热30分钟，于冰水中冷却至0℃，加入25毫升10N氢氧化钠，混合，直接作荧光读数。 $\lambda_{ex}436nm$, $\lambda_{em}495nm$ 。

标准：

2—甲基—5—羧酸—7—氨基喹啉的冰醋酸溶液。

结果：

化合物	检测限度 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
阿拉伯糖	0.8—4.0	1.5	0.31
来苏糖	0.5—2.5	1.0	0.36
核糖	0.5—2.5	1.0	0.40
木糖	0.5—2.5	0.9	6.36

注意事项

(1) 生成的荧光不稳定，应在加碱后直接读数。

(2) 己醛糖反应较弱。检测限度，葡糖和半乳糖为20—100微克，果糖为50—500微克，得到非线性关系。

四、2—脱氧糖

3,5—二氨基苯甲酸二盐酸盐法。

原理⁽⁴⁾：

同 α —亚甲醛的荧光分析法：黄绿色荧光。

试剂：

2克3,5—二氨基苯甲酸二盐酸盐溶在57毫升水中, 再加入43毫升磷酸($d=1.71$)。

操作手续:

取2毫升2—脱氧糖的水溶液, 加入2毫升试剂, 用木棉塞住试管, 避光在 100°C 加热15分钟。在冰水中冷却2分钟, 然后作荧光读数。 $\lambda_{\text{ex}}405\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}505\text{nm}$ 。

标准:

2—甲基—5—羧酸—7—氨基喹啉的10%醋酸溶液。

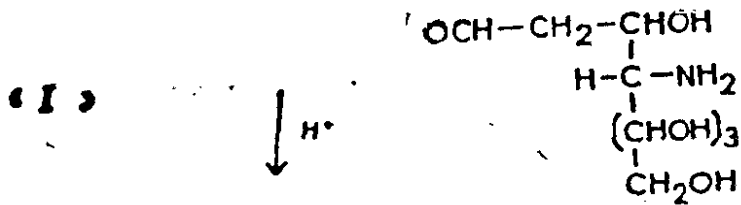
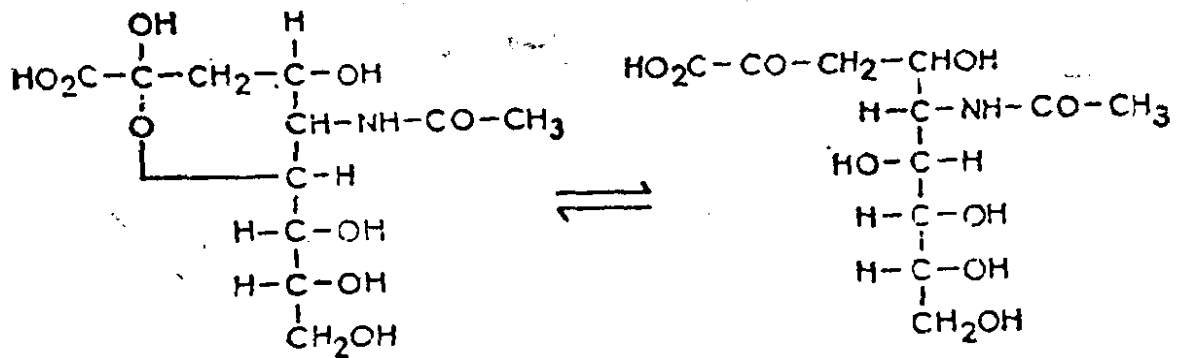
结果:

化合物	检测限度, 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
2—脱氧核糖	10—50	21	0.025
地麦毒糖	20—100	44	0.030
2—脱氧葡萄糖	0.8—5.0	1.5	0.039

注意事项:

(1) 此反应可用于脱氧核糖核酸^(5,6)和2—脱氧葡萄糖的⁽⁷⁾检测。

(2) N—乙酰基神经氨酸(I) (一种唾液酸) 是一种酮酸, 它在酸性介质中容易脱去乙酰基和脱去羧基。然后生成的2—脱氧—4—氨基辛糖(II)与二氨基苯甲酸反应⁽⁸⁾。



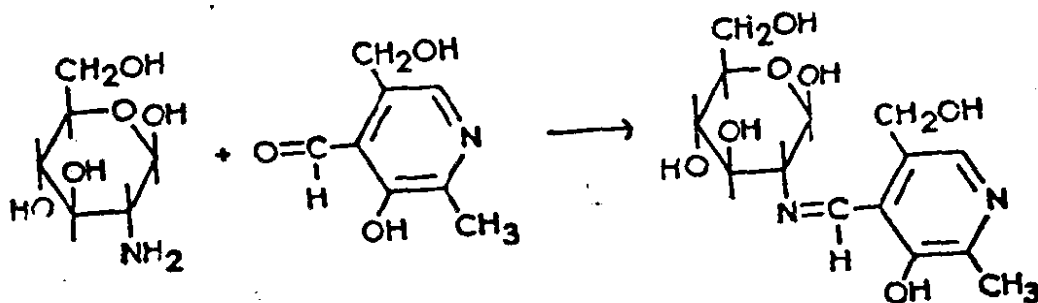
II

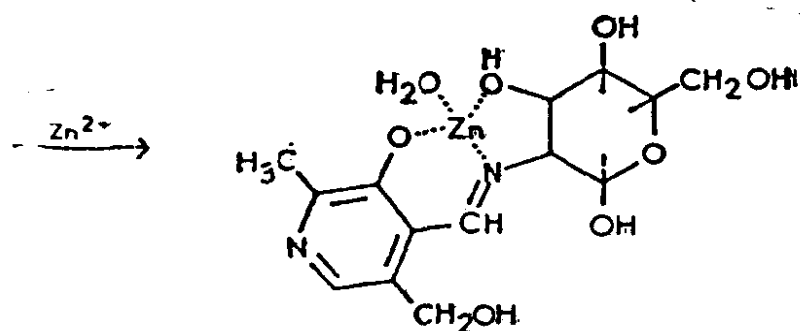
五、2—氨基—2—脱氧己糖

1. 吡哆醛和硝酸锌法。

原理⁽⁹⁾：

在吡啶的存在下与吡哆醛和锌离子反应，生成锌—N—吡啶并羟基叉己糖胺螯合物：蓝色荧光。





试剂:

- a. 吡啶和甲醇 1 : 4 混合液。
- b. 0.05% 吡哆醛的甲醇溶液。
- c. 2% 硝酸锌 (· 6 H₂O) 水溶液。

操作手续:

取 0.5 毫升 2-氨基-2-脱氧己糖的中性水溶液, 加入 0.5 毫升试剂 a 和 0.5 毫升试剂 b。在室温下静置 30 分钟, 加入 0.5 毫升试剂 c, 静置 15 分钟, 再加入 3 毫升甲醇, 作荧光读数。λ_{ex}410 nm, λ_{em}470 nm。

标准:

取 2 毫升七叶灵的乙醇溶液, 加入 2.5 毫升 1N 氢氧化钠。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
半乳糖胺(盐酸盐)	1.0—5.0	1.87	0.22
葡萄糖胺(盐酸盐)	0.4—2.0	0.75	0.08

2. 茚三酮和苯乙醛法。

原理和操作手续:

见第一脂族胺的荧光分析法。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
半乳糖胺(盐酸盐)	1.4—7.0	2.5	0.97
葡糖胺(盐酸盐)	3.0—15.0	4.8	1.00

六、己糖醛酸

偏高碘酸钠和间苯二酚法。

原理和操作手续:

见2,3-二羟基-1-羧酸的荧光分析法: 黄绿色荧光。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
半乳糖醛酸	2—10	4.7	0.077
葡糖醛酸	2—10	4.5	0.068

参考文献:

1. From C. J. Rogers, C. W. Chambers and N. A. Clarke, *Anal. Chem.*, 38, 1851 (1966).
2. Cf. H. Trapmann and V. S. Sethi, *Z. Anal. Chem.*, 248, 314 (1969).
3. M. Pesez and J. Bartos, *Talanta*, 16, 331 (1969).
4. *ibid.*, 14, 1097 (1967).

5. M. Pesez, Bull. Soc. Chim. Biol., 32, 701 (1950).
6. J. M. Kissane and E. Robins, J. Biol. Chem., 233, 184 (1958); R. T. Hinegardner, Anal. Biochem., 39, 197 (1971).
7. F. B. Cramer and G. A. Neville, J. Franklin Inst., 256, 379 (1953); M. Blecher, Anal. Biochem., 2, 30 (1961).
8. H. H. Hess and E. Rolde, J. Biol. Chem., 239, 3215 (1964).
9. M. Maeda, T. Kinoshita and A. Tsuji, Anal. Biochem., 38, 121 (1970).

第四节 甾族化合物的荧光分析

一、羟基甾族化合物

8-羟基喹啉钒盐和醋酸镁法。

原理和操作手续：

见醇的荧光分析法。

结果：

化合物	检测限度, 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
胆甾醇	70—350	137	1.28
睾丸素	40—200	84	1.45

二、 Δ^4 -或 $\Delta^{1,4}$ -3,11-二甾酮

2,6-二特丁基-对甲酚和过氧化氢法。

原理⁽¹⁾：

在过氧化氢存在下于碱性介质中与2,6-二特丁基-对甲酚反应：紫外荧光。

试剂：

a. 2,6-二特丁基-对甲酚乙醇溶液。

b. 0.03%过氧化氢水溶液(0.1体积氧)。

操作手续：

取2毫升样品的乙醇溶液，加入1毫升试剂a，0.2毫升试剂b，和2毫升1N氢氧化钠。在柔和的光线下于80℃加热30分钟，在冰水浴中冷却2分钟，然后作荧光读数。 $\lambda_{ex}436nm$ ， $\lambda_{em}520nm$

标准：

2,6-二甲基-3,5-二乙酰基-1,4-二氢吡啶的50%乙醇溶液。

结果：

化合物	检测限度, 微克	读数 50	
		样品, 微克	标准, 微克/毫升
肾上腺素酮	1—5	1.8	0.159
皮质酮	1—5	2.0	0.175
泼尼松	40—200	82	0.185

注意事项：

(1) 与脱氢胆酸也得正反应。其检测限度是4—20微克。 $\lambda_{ex}405nm$ ， $\lambda_{em}485nm$ 。

(2) 同样的试剂可用于3-甾酮化合物的分光光度法测定。

三、 $\Delta^{5(10)}$ -3-酮-19-去甲基甾族化合物

焦宁G法。

原理⁽¹⁾：

在碱性介质中，在与甾酮反应的基础上，焦宁G（也称焦宁Y）的橙黄色荧光部分消褪。

试剂：

0.001%焦宁G（Y）的水溶液。

操作手续：

整个过程在冰水中操作，而且避光。取1毫升样品的乙醇溶液，加入1毫升试剂，2.5毫升水和0.2毫升1 N氢氧化钠，混合。静置3分钟，加入0.15毫升冰醋酸，混匀后作荧光读数。

$\lambda_{ex}546\text{nm}$, $\lambda_{em}570\text{nm}$ 。

此测定主要根据样品溶液的荧光的减弱，不需要标准物。调节荧光分光光度计对本底的读数为100。

结果：

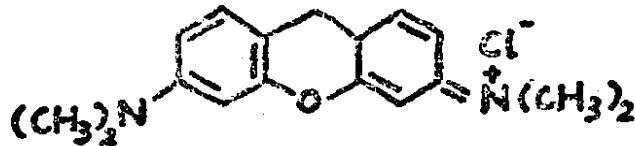
化 合 物	检测限度, 微克	最高限度 的读数
17 β -羟基-5(10)-雌烯-3-酮	0.5—2.5	40
17 α -乙炔-17 β -羟基-5(10)-雌烯-3-酮	0.6—3.0	46
17 β -羟基-5(10), 9(11)-雌二烯-3-酮苯甲酸酯	1—4	40
19-去甲基-5(10)-朵甾烯-3,20-二酮	1—4	45
Norethynodrel	0.5—2.5	36

焦宁G在试管壁，滴管和样品池上有很强的吸收，因此必须在每一测定步骤用浓硫酸洗玻璃器皿。

注意事项：

(1) Δ^4-3 -甾酮也反应，但很弱。

(2) 我们可以看到，在与 $\Delta^{5(10)}-3$ -酮-19-去甲基甾族化合物反应后硫基和亚甲蓝的颜色部分消褪。从这个观察中可以推出焦宁G的结构(I)，可以与此两种染料相比较，在荧光分析法测定中得到相同的结果。



(I)

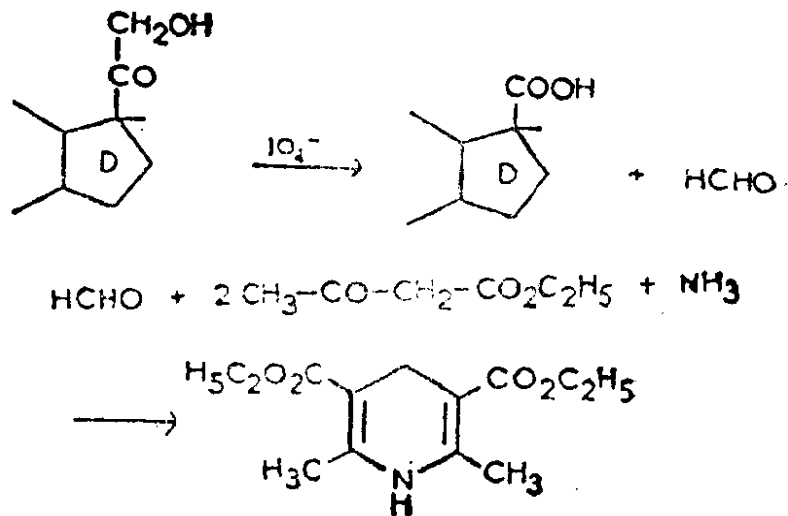
四、17-甾乙酮醇(游离的)

偏高碘酸钠，乙酰乙酸乙酯和醋酸铵法。

原理⁽²⁾：

酮醇基用高碘酸盐离子氧化，生成的甲醛再用乙酰乙酸乙酯和氨显色，蓝色荧光。

反应式：



试剂:

- a. 0.01M偏高碘酸钠水溶液。
- b. 在100毫升1N盐酸中溶解0.25克氯化亚锡($\cdot 2H_2O$)。
- c. 4%的乙酰乙酸乙酯的20%醋酸铵水溶液。

操作手续:

取1毫升样品的2%乙醇溶液,加入0.2毫升试剂a,在室温下静置20分钟。加入0.8毫升试剂b,0.8毫升1N氢氧化钠,1.2毫升水,和1毫升试剂c。在60℃加热20分钟,冷却,然后过滤。滤液作荧光读数, $\lambda_{ex}366nm$, $\lambda_{em}470nm$ 。

标准:

2,6-二甲基-3,5-二乙酯基-1,4-二氢吡啶于49:1的水和乙醇的混合液中。

高碘酸盐和高碘酸盐氧化反应,以及甲醛的荧光分析法测定,见有关章节。

结果:

化合物	检测限度, 微克	读数 50	
		样品,微克	标准,微克/毫升
脱氧皮质甾酮	6—30	12	1.75
氢化泼尼松	8—40	17	2.05
皮质酮	6—30	12	1.85
泼尼松	6—30	12	1.85

参考文献:

1. M. Pesez and J. Bartos, *Talanta*, 16, 331 (1969).
2. M. Pesez and J. Bartos, *Talanta*, 14, 1097 (1967).

附 录



一、三元络合物在荧光分析中的应用

表中符号说明：

A——水溶液荧光分析法

A/E——适合于水溶液和萃取荧光分析的方法

Q——水溶液荧光熄灭法

OQ——有机相荧光熄灭法

λ_{ex} ——激发波长（激发峰）

λ_{em} ——发射波长（荧光峰）

E——萃取荧光法

E_s——萃取荧光法，包括联合的染料离子交换

IE——间接萃取荧光法

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Ag(I)	Ag(I)-丁基罗丹明 B+Br ⁻	E	苯, 从6NH ₄ SO ₄ + 0.1NBr ⁻ , 预先用二 苯硫脲分离Ag(I)	565/590	0.06—6.0/6	许多 阳离子	1 2 3
	Ag(I)-四溴荧光素— 1,10-二氮菲	E	氯仿:丙酮(7:3) 从PH6, 用二苯硫脲 分离Ag(I)	540/580	0.5—10/6	Fe(II) In(II) Co(II)	4
	Ag(I)-四溴荧光素— 1,10-二氮菲	Q	PH3~8, 用EDTA 为掩蔽剂	546/560	0.1—1.0/25	Pd(I)	5
	Ag(I)-四碘荧光素— 1,10-二氮菲	E	氯仿, 从PH6	510/570	0.5—10/6	许多 阳离子	1
	Ag(I)-罗丹明6G --Br ⁻	E	苯, 从4.2N H ₂ SO ₄ +0.17N Br ⁻	535/560	0.5—10/6	许多 阳离子	6 1
	Ag(I)孟加拉玫红— 1,10-二氮菲	E	氯仿, 从PH6	535/580	0.3—3/6	许多 阳离子	1

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参 考 资 料
Ag(I)	Ag(I)-3,4,5,6- 四氯荧光素-1,10- 二氮菲	Q	PH1.05-11.8EDTA 作为掩蔽剂	540/-	0.5-6.0/-	I ⁻ CN ⁻ S ₂ O ₃ ²⁻	7
Al(III)	Al(III)-安替比林- 栎精	E	氯仿, 从PH5+ NaClO ₄	365/509	/	Ga(III) In(III) Zr(IV) Th(IV) Fe(III)	8
As(III)	As(III)-罗丹明B- Cl ⁻	IE	苯从1.2NHCl+2.5× 10 ⁻⁶ MKIO ₄ 萃取Cl ₂ , (RhB), 间接计算As	565/590	0.3-1.5/5	Fe(III) Cu(II) Ga(III) Sn(II)	9
Au(III)	Au(III)-丁基罗丹明 B-Cl ⁻	E	苯-丙酮, 从 12NH ₄ SO ₄ +0.5% NaCl	565/595	0.12-1.2/6	(NO ₂) ⁻ TL(III)	1 10- 12
		Es	苯从0.5NH ₄ SO ₄ + 0.1%KBr+0.0025% 结晶紫, 然后在11.5N H ₂ SO ₄ 中用丁基罗 丹明B, 摇动	560/595	0.01-2/6	sb(III) TI(III)	13

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Au(III)	Au(III)-罗丹明B-Br ⁻	E	苯-乙醚从3.8 NHBr+0.5NKBr	366/580	1.0—100/20	许多 阳离子	14
	Au(III)-罗丹明B-Br ⁻	E	异丙醇从0.8NHCl	550/575	<0.23/10	Sb(III) Tl(III) In(III) Ga(III)	15
	Au(III)-罗丹明B-Cl ⁻	E	苯从0.25—0.4N H ₂ SO ₄ +0.5%NaCl 0.005%丹罗明B	575/—	0.1—1/6	/	10
B(III)	Au(III)-罗丹明B- Cl ⁻	E	苯-丙酮从3.1N H ₂ SO ₄ +0.4NHCl	560/580	0.5—4.0/5	许多 阳离子	16
	B(III)-丁基罗丹明-B- F ⁻	E	苯从0.1NH ₂ SO ₄ +0.05NF ⁻	536/590	0.01—0.5/10	许多 阳离子	17、 18

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
B(III)	B(III)-罗丹明6G- 水杨酸	E	苯从0.001NHCl	368/560	0.001--1/10	Pt(II) Re(VI) Mo(VI) V(V) W(VI)	1,19
Be(II)	Be(II)-四环素-二乙 硫代巴比士酸	A	PH9	407/506	5--15/50	/	20
Cd(II)	Cd(II)-四碘荧光素- 1,10-二氮菲	E	氯仿, 从PH8, 加 丙酮到萃取液	530/570	0.6--9/6	许多 阳离子	21
	Cd(II)-碘四溴荧光素 或四溴荧光素-1,10- 二氮菲	E	氯仿, 从PH8, 加 丙酮到萃取液	540/570	0.3--6/6	许多 阳离子	21
Co(II)	Co(II)-四溴荧光素- 1,10-二氮菲	E	氯仿, 从PH9, 加 丙酮到萃取液	540/558	0.1--1/10	许多 阳离子	22

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Co(II)	Co(II)-吡啶-2-醛- 2-吡啶基脒(PAPHY)- 四溴荧光素	E	氯仿-丙酮(7:5)从 PH5.6+0.0025% PAPHY	530/558	0.08—4/10	Cu(II) Ni(II) Ee(III) Pd(II) Hg(II)	23
	Co(II)-水杨基荧光 酮-H ₂ O ₂	A	PH11	366/540	0.0005-0.01/5	/	1
Cu(II)	Cu(II)-四溴荧光素- 1,10-二氮菲	E	氯仿从PH9; 加丙酮 到萃取液中	540/5	0.1—1.0/10	许多 阳离子	22
	Cu(II)-孟加拉玫瑰红- 1,10-二氮菲	E	氯仿+2%NH ₃ 在丙酮 中, 从PH9	560/570	0.1—6.0/100	许多 阳离子	24
Dy(III)	Dy(III)-亚氨基乙酸- Tiron(1,2-二羟基苯- 3,5-二磺酸)	A	PH12.5—13.0	~/577	从0.0001	/	25
	Eu(III)-二苯酰甲烷- 二乙胺	A	PH9.2(沉淀悬浮物)	365/613	从0.002	/	26

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Eu(III)	Eu(III)-二萘酰三氟 丙酮-三烷基氧化磷	E	苯从PH5.5-6.5	365/613	0.01-500/10	Sm(III) Fe(III)	27
	Eu(III)-六氟乙酰丙 酮-三烷基氧化磷	E	甲基环己烷从PH3	360/615	0.001-4.5/8	Sm(III) Tb(III)	28
	Eu(III)-1,10-二氮 菲-水杨酸盐	E	苯从PH6-7	366/6:2	0.05-2.5/10	稀土(III)	29
	Eu(III)-TTA-可力丁	A/ E	PH6-7或苯从PH6-8	366/612	0.0001-1.0/5	稀土(III)	1
	Eu(III)-TTA-苯基 奎尼定	A/ E	PH6-7或苯从PH6-8	366/612	0.0001-1.0/5	稀土(III)	1
	Eu(III)-TTA-羟基 乙酰乙脒二胺三乙酸	A	PH8.2	365/613	0.05-3/10	/	30
	Eu(III)-TTA-1,10- 二氮菲	A/ E	PH6-8或苯从PH6-8	366/612	0.002-6.0/5	稀土(III)	1 31- 32

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
F ⁻	F ⁻ -Zr(IV)-钙蓝	A	PH2.5	325/410	0.9-6.0/100	WO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ , Al(III), Mn(II), Ag(I)	33
	Fe(III)-四溴荧光素 1,10-二氮菲	E	氯仿从PH9, 加丙酮 到萃取液中	540/580	1-10/10	许多 阳离子	22
Ga(III)	Ga(III)-吡啶橙-Cl ⁻	E	二氯乙烷从6NHCl	305/525	0.025-0.5/5	/	34
	Ga(III)-安替比林- 标精	E	氯仿从PH5.0 + NaClO ₄	365/509	0.05-0.5/5	Al(III), In(III), Zr(IV), Fe(III), Th(IV)	8
	Ga(III)-罗丹明- B-Cl ⁻	E	苯从5-6 NHCl	560/580	0.02-6/5	许多 阳离子	35- 39
	Ga(III)-罗丹明-B-Cl ⁻	E	(9:1)苯-丙酮从6NHCl	560/580	0.01-2/6	/	40- 42
	Ga(III)-罗丹明-3Go- Cl ⁻ (Br ⁻)	E	苯从6 M HCl, 4.5M H ₂ SO ₄ + 0.2-0.5M HBr	538/558	从0.025/10	/	43- 44

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Ga(III)	Ga(III)-罗丹明4G- Cl ⁻ (Br ⁻)	E	苯从6MHCl, 4.5M H ₂ SO ₄ , +0.2-0.5M HBr	557/572	从0.025/10	/	43- 44
	Ga(III)-罗丹明5G- Cl ⁻	E	苯从13NH ₂ SO ₄ , + 1NHCl(或1NNaCl)	530/535	0.01/0.2/5	Au(III) Hg(II) Sb(III) TI(III) Fe(II)	45, 46
	Ga-罗丹明6G-Cl ⁻	E	苯从6MHCl	535/560	0.02-1.6/10	许多 阳离子	37
Gd(III)	Gd(III)-水杨酸盐- 罗丹明B	E	苯从PH6.0-6.3	546/571	1.5-15/10	稀土(III)	47
Hf(IV)	Hf(IV)-桑色素-Cl ⁻	A	7NHCl+30%甲醇	420/501	从0.05/5	Zr(IV)	48
	Hf(IV)-标精-Cl ⁻	A	7NHCl或0.5N H ₂ SO ₄ , +38%甲醇	436/509	从0.2/5	Zr(IV)	49

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Hg(I)	Hg(I)-结晶紫→ 丁基罗丹明B-Br	Es	苯从0.25NH ₄ SO ₄ , + 10 ⁻⁴ MKBr + 结晶紫, 然后丁基罗丹明B在 11NH ₄ SO ₄ 和KBr中	560/590	0.01—2/10	Au(III)	50
	Hg(I)-四溴荧光素- 1,10-二氮菲	E	氯仿从PH 9, 加丙酮 到萃取液中	540/580	0.5—10/10	许多 阳离子	22
	Hg(I)-罗丹明B- Br ⁻	E	苯从4.5NH ₄ SO ₄ + 0.1 NBr ⁻	560/590	1.0—10/6	许多 阳离子	1
	Hg(I)-罗丹明B- Cl ⁻	A	2 NH ₄ SO ₄ + 0.2N NaCl	560/590	0.25—10/10	/	97
	Hg(I)-罗丹明B-I ⁻	Q	PH < 4	486/586	5—50/5	Cd(I) Pd(I) Tl(I) Te(I) Sb(I) Bi(I) Pb(I)	1

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
In(III)	In(III)-罗丹明B- Br ⁻	E	苯-丙酮(5:1)从 2.5NHBr	560/580	从0.03/10	许多 阳离子	1
	In(III)-罗丹明B- Br ⁻	E	苯从PH ₃ -6NH ₃ SO ₄ + 2NKBr + 5%丙酮	560/580	0.2-4/10	许多 阳离子	51
	In(III)-罗丹明3B- Br ⁻	E	苯从1NHBr	565/590	0.02-2.0/6	Sb(III) Sn(II)	40
	In(III)-罗丹明3B- Br ⁻	E	苯从2.5NHBr	565/590	0.04-0.4/6	许多, 阳离子	1
	In(III)-罗丹明3B- Br ⁻	E	苯从2-6NH ₃ SO ₄ + 2NKBr	565/590	0.1-3.0/5	许多 阳离子	52
	In(III)-罗丹明3GO- Cl ⁻	E	苯从6NHCl或4 - 5MH ₂ SO ₄ + 0.2 - 0.5MHBr	535/560	7/10	/	44
	In(III)-罗丹明4G- Cl ⁻	E	苯从6NHCl或4 - 5MH ₂ SO ₄ + 0.2 - 0.5MHBr	546/565	2/10	/	44

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
In(III)	In(III)-罗丹明6G- Br ⁻	E	苯从13NH ₂ SO ₄ +0.2N HBr	530/570	从0.01/6	许多 阳离子	53
	In(III)-罗丹明6J- Br ⁻	E	苯从13NH ₂ SO ₄ +0.2 NHBr	535/560	2-1000/5	Cu(II) Fe(III) Sn(II)	54
La(III)	La(III)-2-苯基噻啉- 4-羧酸-罗丹明B	E	苯从PH 5-6	555/590	/	稀土(III)	55
Lu(III)	Lu(III)-桑色素-安替 比林甲烷	E	氯仿从PH6.2-6.8	365/508	0.1-50/5	许多 阳离子	56
Mn(II)	Mn(II)-四溴荧光素- 1,10-二氮菲	E	氯仿从PH 9, 加丙酮 到萃取液中	540/580	1-10/10	许多 阳离子	22
MO(IV)	Mo(IV)-罗丹明B- SCN ⁻	Q	1.6NH ₂ SO ₄ +0.8N HCl+0.8%SCN ⁻	350/578	0.05-5/25	不干扰	57
Nb(V)	Nb(V)-荧光镓试剂- H ₂ O ₂	A	PH5.6-7.1	546/640	5-10	/	58

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克) / 最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考资料
Nb(V)	Nb(V)-荧光绿试剂- 草酸盐	A	PH5--6.5, 0.02N H ₂ C ₂ O ₄	336 / 630	1--2.5 / 10	Ga(III) Fe(III) Ti(IV) Ta(V)	59
	Nb(V)-桑色素-H ₂ O ₂	A	PH 3, 50% 甲醇或 25% 乙醇或丙醇	436 / 505	0.02-2.0 / 5	Al(III) Ga(III) C ₂ O ₄ ²⁻	60
	Nb(V)-栎精-H ₂ O ₂	A	PH 2.1, 50% 乙醇	430 / 500	0.5--4.5 / 5	Ta(V)	61
Nb(V)	Nb(V)-磺基萘酚偶 氮间苯二酚-H ₂ O ₂	A/E	PH 3.2-4.7, 30% C ₂ H ₅ OH 1-1.5 小时反应时间, 在奎 尼定存在时可用丁醇萃取 此络合物	540 / 680	0.2--2.0 / 5	Ta(V) EDTA C ₂ O ₄ ²⁻	62
	Nb(V)-磺基萘酚偶 氮间苯二酚-草酸盐 (酒石酸或 F ⁻)	A/E	PH 5-6.5, 10-30% 甲醇, 30--80 分钟反应时间; 在 奎尼定存在时可用丁醇萃 取此络合物	540 / 640 -700	0.2--2.0 / 5	/	63

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Ni(Ⅱ)	Ni(Ⅱ)-四溴荧光素- 1,10-二氮菲	E	氯仿从PH 9, 加丙酮 至萃取液中	540/580	1—10/10	许多 阳离子	22
Pb(Ⅱ)	Pb(Ⅱ)-四溴荧光素- 1,10-二氮菲	E	氯仿从PH 9, 加丙酮 至萃取液中	540/580	1—0/10	许多 阳离子	22
PO ₄ ³⁻	磷酸盐—奎宁	A	0.05MH ₂ SO ₄ 在90%丙 酮中	352/445	0.02—2/2	As(Ⅲ) W(VI) Ge(Ⅱ)	64
	磷酸盐—罗丹明B	E	1NHCl用氯仿萃取过 量的染料,然后用氯仿/ 丁醇(4:1)萃取此 络合物	350/575	0.04—0.6/2	As(Ⅲ) V(V) Cr(Ⅲ)	65
Re(VII)	高铼酸盐--吡啶橙	E	二氯乙烷从0.5—2.5 MH ₂ PO ₄ /6×10 ⁻⁶ 吡啶橙	505/520	0.15—40/10	/	66、 67

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Re(Ⅰ)	高铼酸盐—罗丹明3B	E	苯从 1 MH ₂ PO ₄	560/590	0.1—2.0/5	Fe(Ⅰ) W(V) Cl ⁻	68
	高铼酸盐—罗丹明6J	E	苯从 1 NH ₂ SO ₄	535/560	1—30/5	Hg(Ⅰ) Cr(Ⅰ) Mn(Ⅰ) W(V) 阴离子	69
	高铼酸盐—藏红T	E	二氯乙烷从 PH4—8, 加丙酮到萃取液(40%) 中	515/546	0.02—1/10	/	70
Sb(V)	Sb(V)—结晶紫→ 罗丹明 3B—Cl ⁻	Es	苯从 9 MHCl + 0.005% 结晶紫, 用 6.5 MH ₂ SO ₄ + 0.002% 罗丹明 3B 摇 动萃取液, 加丙酮到萃 取液中	565/595	0.05—0.20/6	Au(Ⅰ) Tl(Ⅰ)	71
	Sb(V)—罗丹明6G— Cl ⁻	E	苯从 6 NH ₂ SO ₄ + 0.5N NaCl	532/555	1—20/10	/	1

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Sb(V)	Sb(V)-藏红T-Cl ⁻	E	苯从2NHCl,用丙酮稀 释萃取液(1:3)	510/570	0.2-15/15	Au(III) Th(IV) Ga(III)	72
Sc(III)	Sc(III)-桑色素-安替 比林	E	氯仿从PH3.3-3.4+ 0.1MNaClO ₄	360/510	0.1-2/10	许多 阳离子	73
	Sc(III)-2-苯基噻啉- 4-羧酸-罗丹明B	E	苯从PH4.2	556/580	1-45/10	许多 阳离子	74
	Sm(III)-六氟乙酰丙 酮-三辛基氧化磷	E	甲基环己烷从PH3	365/565	0.02-4.5/3	Eu(III) Tb(III)	28
Sm(III)	Sm(III)-2-萘酰三氟 乙酰丙酮-三辛基氧化 磷	E	苯从PH5.5-7.0	365/565	0.01-500/10	Fe(III) Eu(III)	27
	Sm(III)-TTA-可力 丁(二苯基奎尼定或 1,10-二氮菲)	A/E	PH6-7或苯从PH6-7	366/562	0.25-5/5	稀土(III)	1

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Sm(III)	Sm(III)-TTA-1,10- 二氮菲	E	苯从PH 5-7	366/562	0.05-5/5	稀土(II)	31- 32
	Sn(IV)-罗丹明B- Br ⁻	E	乙醚从4NHBr, 蒸发 萃取液, 苯从2NHBr + 罗丹明B	565/580	2-5/5	/	75
Sn(IV)	Sn(IV)-罗丹明B- Br ⁻	E	苯从2NHBr	560/580	0.5-10/5	Au(III) Cr(III) Ti(III) In(III) Hg(I) WO ₄ ²⁻	76
	Ta(V)-亮绿→丁基 罗丹明B-F ⁻	Es	苯从1NH ₂ SO ₄ +0.2% F ⁻ +亮绿; 用在10N H ₂ SO ₄ 中的丁基罗丹明 摇动萃取液, 加丙酮于 萃取液直到30%	560/595	0.1-2/5	Ti(IV) Cr(III) Zr(IV) Re(V) Nb(V)	77
Ta(V)	Ta(V)-桑色素-H ₂ O, Ta(V)-罗丹明6G-F ⁻	E	丁醇从PH 3	436/509	0.03-0.35/5	Nb(V) Ti(IV)	78
		E	苯从F ⁻ 溶液中	~/530	从0.5	/	79

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Ta(V)	Ta(V)-罗丹明6J- F ⁻	E	苯从0.1MF ⁻	530/570	从0.002/5	/	80
	Tb(III)-乙酰丙酮- EDTA	A	PH10.0-11.5	250/546	0.04-4.0/25	/	81
	Tb(III)-安替比林- 四苯硼钠	A	PH5.0-6.3	296,302/ 543	0.5-10/10	Dy(III) Eu(IV) Sm(III)	82
Tb(III)	Tb(III)-2,3-二羟基 萘-EDTA	A	PH10.5-12.0	365/545	0.01-4/10	/	83
	Tb(III)-六氟乙酰丙 酮-三辛基磷	E	甲基环己烷从PH3	350/545	0.005-4.5/3	Eu(III) Sm(III)	28
	Tb(III)-亚氮二乙酸- Tiron	A	PH12.5-13.0	--/545	0.0001-1000/25	/	25
	Tb(III)-水杨酸盐- 安替比林	E	苯从PH5-6	366/544	0.05-25/5	Eu(III) Nd(III) Pr(III)	84

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Tb(III)	Tb(III)-水杨酸盐- EDTA	A	PH12.6-12.7	289/546	0.007-5/10	/	85
	Tb(III)-磺基水杨酸- EDTA	A	PH11.7-11.9	350/545	0.16-80/25	许多 阳离子	86
	Tb(III)-磺基水杨酸- 1,10-二氮菲	E	苯从PH6-7	366/543	0.5-25/10	/	29
Te(II)	Te(II)-丁基罗丹明 B-Br ⁻	E	苯+乙酸丁酯从11N H ₂ SO ₄ +0.7NBr ⁻	366/595	0.02-1/5	Sn(IV) Bi(III) In(III) Tl(III) AS(III)	87
	Te(II)-丁基罗丹明 B-Br ⁻	E	苯+乙酸丁酯从9.2N H ₂ SO ₄ +0.1NBr ⁻	565/590	0.1-1/5	许多 阳离子	2
	Te(II)-罗丹明B- Cl ⁻	E	苯+丙酮(2:1)从 5.7% HCl	560/590	0.5-1.0/15	许多 阳离子	88

续表

494

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克) / 最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Te(II)	Te(II)-罗丹明3GO- Cl ⁻	E	苯从3.5—4 M HCl	365 / —	4.5—600 / 6	/	89
	Te(II)-罗丹明4G- Cl ⁻	E	同上	365 / —	1—80 / 6	Ga(II) In(II)	89
	Te(II)-罗丹明6J- Br ⁻	E	苯从8N H ₂ SO ₄ + 0.8N Br ⁻	535 / 560	0.5—5 / 5	许多 阳离子	2
Th(IV)	Th(IV)-5,7-二溴-8- 羟基喹啉—罗丹明B	OQ	苯从PH4.5—7.0	144 / 570	0.2—6 / 5	/	90
	Th(IV)—5,7—二硝 基—8—羟基喹啉— 罗丹明B	E	苯从PH1.8	560 / 580	0.07—15 / 10	/	89
Tl(III)	Tl(III)-吡啶橙—Cl ⁻	E	乙酸丁酯从PH0.8—2.5	495 / 520	0.02—3 / 6	Hg(II) Au(III) Sb(III) In(III)	92

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Tl(III)	Tl(III)-吡啶黄-(y)- Cl ⁻	E	二氯乙烷从PH0.4-1.0, HCl	-/495	从0.05/10	Sb(III) Au(III) Hg(II) NO ₂ ⁻	93
	Tl(III)-吡啶黄-(f)- Cl ⁻	E	二氯乙烷从PH1.5-1.7, HCl	-/490	0.025-5.0/10	Sb(III) Hg(II) Au(III)	94
	Tl(III)-结晶紫→丁 基罗丹明B—Cl ⁻	Es	苯从H ₂ PO ₄ (1:7)+ Cl ⁻ +结晶紫, 用在12 N的H ₂ SO ₄ 中的丁基罗 丹明B摇动萃取液	560/595	0.02---1.6/6	/	95
	Tl(III)—罗丹明B— Cl ⁻ (Br ⁻)	E	苯从5NHCl(HBr)	366/580	从0.1/500	Au(III) Hg(II) Sb(III) Fe(III) SCN ⁻	96 98

续表

离子	三元络合物体系	方法	反应条件	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	检出限量 (微克)/最后 有机相的体积 (毫升)	干扰 情况	参考 资料
Tl(II)	Tl(II)-罗丹明6J- Br ⁻	E	苯从5NHBr	366/560	0.02-1.0/4	许多 阳离子	1
U(V)	U(V)-罗丹明B- 苯酸	E	苯从PH5	366/590	2.5-4000/10	许多 阳离子	99
W(VI)	钨酸盐-罗丹明B	Q	0.01NHCl	366/580	0-1000/50	许多 阳离子	100 101
Zn(II)	Zn(II)-四溴荧光素- 1,10-二氮菲	E	氯仿从PH9, 加丙酮 到萃取液中	540/580	1.0-10/10	许多 阳离子	22
	Zn(II)-罗丹明B- SCN ⁻	E	乙醚从PH3.5-5.0	366/580	1.0-25/5	/	102
	Zn(II)-罗丹明B- SCN ⁻	Q	PH4.2+0.1MSCN ⁻	366/580	0.5-10/6	/	103

参 考 资 料

1. P. R. Haddad, *Talanta*, (1), 1 (1977).
2. C. A., 1966, 64, 14969.
3. C. A., 1968, 69, 92683.
4. Д. Н. Писичцына, и др., *ЖАХ.*, 25, 2310^а
(1970).
5. M. T. EL—Ghamry, et al., *Anal. Chim. Acta*,
47, 41 (1969).
6. C. A., 1969, 71, 18572.
7. 森逸男等, *分析化学(日)*, 22, 1202(1973).
8. Н. О. Пенъвпч, и др., *ЖАХ.*, 28, 2162(1973).
9. 山本大二郎等, *分析化学(日)*, 23, 638(1974).
10. C. A., 1971, 74, 49318.
11. Н. К. Подберезская, и др., зав. лаб., 36, 1048.
(1970).
12. Н. К. Подберезская, и др., зав. лаб., 33, 152.
(1967).
13. И. А. Блюм, *ЖАХ.*, 26, 55 (1971).
14. C. A., 1967, 66, 82097.
15. J. Marinenco, et al., *Anal. Chem.*, 40, 1137^а
(1968).
16. Б. Т. Таскарин, и др., *Хим. и Хим. Тек.*,
(4), 208 (1965).
17. C. A., 1964, 60, 15109h.
18. А. К. Бабко, зав. лаб., 31, 157(1965).

19. С. А., 1967, 67, 7630.
20. 内藤多喜夫等, 分析化学(日), 18, 1968(1969).
21. М. А. Матвеец, и др., ЖАХ., 26, 823(1971).
22. Д. Н. Лисицына, и др., ЖАХ., 28, 1203(1973).
23. P. R. Haddad, et al., Talanta, 23, 275(1976).
24. В. W. Bailey, et al, Talanta, 13, 1661(1966).
25. М. А. Тищенко, и др., зав. даб., 40, 935(1974).
26. М. А. Тищенко, и др., зав. даб., 39, 671(1973).
27. P. Shigematsu, et al., Anal. Chim. Acta, 46, 101
(1969).
28. R. P. Fisher, et al., Anal. Chem., 43, 454(1971).
29. Л. И. Кононенко, и др., ЖАХ., 18, 1468(1963).
30. С. А., 1974, 81, 57884.
31. Л. И. Кононенко, и др, зав. лаб., 30, 779(1964).
32. С. А., 1968, 69, 64381.
33. T. L. Har, et al., Anal. Chem., 43, 136(1971).
34. С. А., 1973, 78, 131662.
35. Д. Ц. Щербов, и др., зав. лаб., 24, 667(1958).
36. Н. А. Onishi, et al., Anal. Chim. Acta, 13, 159
(1955).
37. Д. П. Шербов, и др, зав. лаб., 24, 6(1958).
38. Д. П. щербов., и др., зав. лаб., 28, 30(1962).
39. Г. И. Кучмистая, зав. лаб., 27, 377(1961).
40. А. И. Цувилева, и др., зав. даб., 35, 1153(1969).
41. С. А., 1961, 55, 7142d.
42. С. А., 1968, 68, 72130.
43. А. П. Головина, и др., ЖАХ., 25, 2242(1970).
44. С. А., 1973, 78, 105651.

45. Д. П. Щербов, зав. лаб., 30, 1527(1964).
46. С. А., 1969, 71, 119310.
47. С. А., 1972, 76, 41534.
48. А. Т. Пилипенко, и др., ЖАХ., 27, 1787(1972).
49. А. Т. Пилипенко, и др., ЖАХ., 28, 510(1973).
50. И. А. Блюм, и др., ЖАХ., 26, 48(1971).
51. А. К. Бабко, и др., ЖАХ., 18, 570(1963).
52. Я. Гловадский, и др., ЖАХ., 19, 693(1964).
53. И. А. Блюм, и др., зав. лаб., 25, 137(1959).
54. И. А. Блюм, и др., зав. лаб., 27, 950(1961).
55. Н. С. Полуэктов, и др., ЖАХ., 27, 266(1972).
56. Н. С. Полуэктов, и др., ЖАХ., 26, 898(1971).
57. P. R. Haddad, et al., Talanta, 22, 61(1975),
58. А. Т. Пилипенко, и др., ЖАХ., 26, 2048
(1971).
59. В. В. Климов, и др., зав. лаб., 29, 147(1963).
60. С. А., 1971, 74, 150774.
61. С. А., 1972, 77, 28509.
62. А. Т. Пилипенко, и др., ЖАХ., 26, 117(1971).
63. А. Т. Пилипенко, и др., ЖАХ., 27, 84(1972).
64. G. F. Kirkbright, et al., Analyst, 97, 174
(1972).
65. G. F. Kirkbright, et al., Anal. Chem., 43, 1434
(1971).
66. С. А., 1973, 78, 92160.
67. Л. А. Григорян, и др., зав. лаб., 40, 136(1974).
68. И. А. Блюм, и др., зав. лаб., 36, 1032(1970).
69. Д. П. Щербов, и др., зав. лаб., 29, 787(1963).

70. А.Т.Пилипенко, и др., ЖАХ., 28, 1524(1973).
71. И.А.БлюМ, и др., ЖАХ., 29, 1572(1974).
72. М.А.Матвеец, и др., ЖАХ., 29, 740(1969).
73. В.А.Назаренко, и др., ЖАХ., 24, 358(1969).
74. С.А., 1972, 76, 107585.
75. С.А., 1972, 74, 109049.
76. С.А., 1971, 77, 27782.
77. И.А.Блюм, и др., ЖАХ., 25, 511(1970).
78. С.А., 1971, 75, 115501.
79. С.А., 1974, 81, 145362.
80. И.Л.Алимарин, и др., ЖАХ., 20, 339(1965).
81. М.А.Тищенко, и др., зав. лаб., 39, 670 (1973).
82. С.А., 1971, 75, 115502.
83. Н.С.Полуэктов, и др., зав. лаб., 37, 1077 (1971).
84. С.А., 1966, 65, 14425e.
85. Н.С.Попуэктов, и др., ЖАХ., 28, 1621 (1973).
86. R.M.Dagnall, et al., Analyst, 92, 358(1967).
87. В.М.Владимирова, и др., зав. лаб., 29, 1419 (1963).
88. Д.П.Щербов, и др., зав. лав., 24, 1346(1958).
89. С.А., 1972, 77, 134673.
90. С.А., 1975, 82, 164398.
91. Ю.В.Грановский, и др., ЖАХ., 29, 1959(1974).
92. Л.А.Григорян, и др., ЖАХ., 28, 1962(1973).
93. С.А., 1974, 81, 85527.
94. С.А., 1974, 81, 85508.
95. И.А.Блюм, и др., ЖАХ., 25, 18(1970).

96. F. Feigl, et al., Anal. Chim. Acta., 9(1953).
97. C. A, 60, 7450h(1964).
98. H. Onishi, Bull. Chem. Soc. Japan, 30, 827 (1957).
99. N. A. Anderson, et al., Anal. Chem., 36, 2138(1964).
100. C. A, 35, 1722, 1941.
101. A. Murata, et al., J. Chem. Soc. Japan, 77, 1259 (1956).
102. А.К. Бабко, и др., ЖАХ., 17, 286(1962).
103. А.К. Бабко, 16, 268(1961).

二、一些有机物和药物的磷光数据

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
二 氢 苊	乙醇	300	515	/	0.2
乙醛-4-硝基苯胺	EPA	395	525	0.5	0.06
丙酮-4-硝基苯胺	EPA	392	525	0.48	0.1
3-乙酰吡啶	乙醇	277	424	<0.5	3.6
N-乙酰-L-酪氨酸乙酯	WME	250	395	/	0.1
腺 嘌 呤	WM	278	406	2.9	0.02
腺 苷	乙醇	280	422	0.8	3.2
对氨基苯甲酸	乙醇	305	425	/	0.001
2-氨基苄	乙醇	380	390	4.6	0.01
6-氨基-6-甲基-巯基嘌呤	WM	321	455	0.66	0.0002
2-氨基-4-甲基嘧啶	乙醇	302	438	2.1	0.033
2-氨基-5-硝基苯并噻唑	EPA	375	515	0.41	0.08
2-氨基-5-硝基联苯	EPA	380	520	0.56	0.05
L-3-氨基酪氨酸·2HCl	乙醇	286	398	0.8	2.4
假木贼碱	乙醇	270	390	6.2	0.01
葱	乙醇	300	462	/	0.05
盐酸阿朴吗啡	乙醇	320	470	3.1	0.001
Aramitl	乙醇	285	400	3.3	0.0003
L-去甲肾上腺素-酒石 酸氢盐	乙醇	260	455	0.5	0.1

续表

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
阿斯匹林	EPA	240	380	2.1	0.10
阿托品	乙醇		410	1.4	0.10
8-氮鸟嘌呤	乙醇	282	442	1.8	0.3
拜耳44646	EPA	290	460	0.6	0.01
拜耳37344	EPA	275	435	<0.2	0.01
苯 甲 醛	乙醇	254	433	3.4	0.004
1,2-苯并蒽	乙醇	310	510	2.2	0.03
1,2-苯并芴	乙醇	315	502	/	0.2
2,3-苯并芴	乙醇	325	502	/	0.2
苯并咪唑	乙醇	280	406	2.3	0.006
苯唑卡因	乙醇	310	430	3.4	0.007
苯 甲 酸	EPA	240	400	2.4	0.005
二苯酮-4-硝基苯胺	EPA	365	515	/	2.0
4-苯酰基联苯-4-硝基苯胺	EPA	370	520	0.38	0.4
3,4-苯并芘	乙醇	325	508	/	3.0
苯 甲 醇	乙醇	219	393	/	0.04
6-苯氨基嘌呤	WM	286	413	2.8	0.02
联 苯	乙醇	270	385	1.0	0.004
6-溴嘌呤	WM	273	420	0.5	0.002
二甲氧基马钱子碱	乙醇	305	435	0.9	0.1
草酸螯毒色胺	WMH	301	447	1.9	0.001

续表

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
Butacaine sulfate	乙醇	310	430	5.7	0.05
咖啡因	乙醇	285	440	2.0	0.2
咪 唑	乙醇	341	436	7.8	0.001
2-氯-4-氨基苯甲酸	乙醇	312	447	1.0	0.07
氯联苯酰酯	乙醇	275	415	<0.2	0.001
对氯苯酚	乙醇	290	505	<0.2	0.02
邻氯苯氧基乙酸	乙醇	280	518	0.7	0.2
对氯苯氧基乙酸	乙醇	283	396	<0.5	0.004
6-氯嘌呤	WM	273	419	0.64	0.002
盐酸氯丙嗪	乙醇	320	490	0.3	0.03
氯四环素	乙醇	280	410	2.7	0.05
Cincophen	乙醇	350	520	0.8	0.02
盐酸柯卡因	乙醇	240	400	2.7	0.01
可待因	乙醇	270	505	0.3	0.01
珊 瑚	乙醇	335	510	<0.2	0.00004
Cyclaine·HCl	乙醇	240	400	2.4	0.006
胞 苷 ^b	WM	287 290,295	412 420,415	/	2.9
胞 苷 ^b	WM2	292 291,295	420 420,424	/	0.016
DDD	乙醇	265	415	<0.2	0.001
DDE	乙醇	270	425	0.2	0.0002

续表

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
DDT	乙醇	270	420	0.2	0.007
盐酸脱氧吡哆素	乙醇	290	442	1.4	0.076
二乙酰磺胺	乙醇	280	405	1.3	0.001
2,6-二氨基嘌呤硫酸酯	乙醇	294	424	1.7	1.2
2,6-二氨基嘌呤	WM	288	410	2.7	0.15
二 嗪 农	乙醇	275	395	5.0	0.03
1,2,5,6-二苯并蒽	乙醇	340	550	1.3	0.003
2,6-二氯-4-硝基苯胺	EPA	368	525	0.47	0.04
2,4-二氯苯氧乙酸	EPA	289	490	<0.5	0.002
二香豆醇	乙醇	305	475	0.6	0.001
2,6-二乙基-4-硝基苯胺	EPA	388	525	0.66	0.19
3,4-Dihydroxymardelic acid ^b	乙醇	260 294,293	397 412,415	<0.5 1.1,1.05	0.09
3,4-二羟基苯乙酸 ^b	乙醇	267 295,292	390 430,428	<0.5 0.9,0.9	0.2
2,5-二甲氧基-4-甲基苯异丙胺	WM	289	411	3.9	0.01
5,7-二甲基-1,2-苯并吡啶	乙醇	310	555	0.6	0.03
N,N-二甲基-4-硝基苯胺	EPA	398	525	0.54	0.05
N,N-二甲基色胺	WM	286	434	6.9	0.015
二苯二酮	乙醇	260	440	0.6	1.0
多巴 ^b	乙醇	286 292,293	435 427,424	0.9 0.9,1.3	0.1

续表

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
多巴胺 ^b	乙醇	273 285,293	410 430,436	0.9	0.15
麻黄碱	乙醇	225	390	3.6	0.20
肾上腺素 ^b	乙醇	260 283,281	412 425,429	0.6 1.0,0.8	0.2
L-肾上腺素-酒石酸氢盐	乙醇	270	410	0.4	1.0
雌二醇	乙醇	292	403	2.0	0.3
N-乙基咪唑	乙醇	340	437	7.8	0.001
N-乙基咪唑	CHX	298	433	8.1	0.001
醋酸乙基-3-吲哚	乙醇	290	440	3.3	0.02
叶 酸	乙醇	367	425	/	0.004
Guthion	乙醇	325	420	0.6	0.06
马 脲 酸	EPA	311	450	4.9	0.004
高香草酸 ^b	乙醇	292 279,282	418 435,439	1.1 0.8,0.8	0.04
DL-5-羧基色胺酸	乙醇	315	435	6.3	0.1
Ibocaine·HCl	WM	292	430	8.6	0.01
Imidan	乙醇	305	440	0.75	0.0006
吲哚-3-乙酸	乙醇	290	438	<0.5	0.02
3-吲哚乙腈	乙醇	285	438	7.1	0.005
3-吲哚丁酸	乙醇	284	510	0.6	0.004
吲哚羧酸	乙醇	290	429	5.5	0.0006
3-吲哚丙酸	乙醇	290	440	0.6	0.002
Isolan	乙醇	285	395	1.6	0.2

续表

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷 光 寿 命 (秒)	检 测 限 度 (微克/ 毫 升)
Kelthane	乙醇	285	515	<0.2	0.0006
Keponc	乙醇	260	410	1.2	1.0
利度卡因盐酸盐	乙醇	265	400	1.1	1.2
D-麦角酸	WM	810	518	0.1	/
麦角酸二乙酰胺	WM3	311	512	0.004	0.008
Mebaral	乙醇	240	380	2.2	0.01
变肾上腺素 ^b	乙醇	288 280,277	418 432,432	1.3 1.1,1.1	0.02
甲 氧 氯	乙醇	275	380	0.7	0.0004
3-甲氧基-4-羟苯基乙二胺 ^b	乙醇	294 286,284	432 440,440	1.2 <0.5,0.7	0.1
Methycaine·HCl	乙醇	240	400	2.7	0.006
2-甲基咪唑	乙醇	333	442	8.1	0.001
2-甲基咪唑	CHX	332	443	7.5	0.001
N-甲基咪唑	乙醇	336	437	8.4	0.001
N-甲基咪唑	CHX	298	431	7.5	0.001
6-甲基巯基嘌呤	WM	291	420	0.6	0.006
N-甲基-4-硝基苯胺	EPA	390	522	0.5	0.05
6-甲基嘌呤	WM	272	405	3.2	0.01
吗 啡	乙醇	285	500	0.3	0.01
硫酸吗啡	乙醇	265	460	0.8	10.0
并 四 苯	乙醇	300	518	/	0.001
萘	EPA	310	475	1.8	0.7

续表

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
α -萘乙酰胺	乙醇	297	513	2.5	0.004
萘乙酸	乙醇	295	510	2.8	0.0004
α -萘酚	乙醇	320	475	1.15	0.0002
β -萘氧乙酸	乙醇	328	497	2.6	0.006
β -萘胺	乙醇	270	505	2.3	0.03
那碎因	乙醇	290	440	0.5	0.1
NIA 10242	乙醇	285	400	1.6	0.007
烟酰胺	乙醇	270	410	/	0.2
烟碱	乙醇	270	390	5.2	0.01
5-硝基二氢萘	EPA	380	540	/	0.5
4-硝基萘胺	EPA	380	510	0.6	0.02
9-硝基蒽	EPA	248	488	/	0.13
1-硝基蒽醌	EPA	250	490	0.28	0.25
4-硝基联苯	EPA	330	480	/	0.2
2-硝基茚	EPA	340	517	0.40	0.04
6-硝基吡啶	EPA	372	520	0.41	0.08
1-硝基萘	EPA	340	520	/	1.5
2-硝基萘	EPA	260	500	0.36	0.15
4-硝基-1-萘胺	EPA	400	578	/	60
3-硝基-N-乙基咪唑	EPA	315	475	0.37	0.01
2-硝基-N-甲基咪唑	EPA	345	530	/	2.8

续表

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
4-硝基-2-甲苯胺	EPA	375	520	0.53	0.1
4-硝基苯肼	EPA	390	520	0.48	0.03
4-硝基酚 ^b	乙醇	355	520	<0.2	0.00002
降肾上腺素 ^a	乙醇	284 392,392	386 425,430	0.5 1.2,1.2	0.15
去甲变肾上腺素 ^b	乙醇	290 283,280	416 435,435	0.65 0.6,0.6	0.02
降烟碱	乙醇	270	390	5.3	0.01
Orthotran	乙醇	260	395	<0.2	0.002
盐酸氧硫胺	乙醇	272	460	<0.5	3.4
盐酸罂粟碱	乙醇	260	480	1.5	0.0005
对硫磷	乙醇	360	515	<0.2	0.008
非那西汀	EPA		410	/	0.2
菲	EPA	340	465	2.6	1.0
Phencyclidine	WM	265	385	/	0.32
芬宁东	乙醇	235	395	<0.2	1.0
苯巴比妥	乙醇	240	380	1.8	0.1
苯丙氨酸	乙醇	270	385	/	0.4
Phenylephrine·HCl	乙醇	290	390	2.4	0.01
DL- β -苯基乳酸	乙醇	262	383	5.4	5.0
邻苯二甲酰硫化乙酰胺	乙醇	290	415	0.6	0.001
邻苯二甲酰磺胺噻唑	乙醇	305	405	0.9	1.0
α -Piolinic acid·HCl	乙醇	278	400	5.2	0.014

续表

化 合 物	溶 剂 ^o	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
盐酸普鲁卡因	乙醇	310	430	3.5	0.01
丙醛-4-硝基苯腙	EPA	395	525	0.5	0.06
二甲-4-羟色胺	WM	292	443	4.0	0.006
嘌 呤	WM	272	405	2.2	0.01
花	乙醇	329	515	/	0.2
吡 啶	乙醇	310	440	1.4	0.0001
吡啶-3-磺酸	乙醇	272	408	1.2	4.8
盐酸吡哆素	乙醇	291	425	/	0.008
五羟黄酮	乙醇	343	480	2.1	0.3
硫酸奎尼定	乙醇	340	500	1.3	0.04
盐酸奎宁	乙醇	340	500	1.3	0.04
葱 烯	乙醇	265	510	/	0.001
Ronnel	乙醇	300	475	<0.2	0.0006
Rutonal	乙醇	240	380	2.5	0.2
水 扬 酸	乙醇	315	430	6.2	0.05
5-羟色胺	乙醇		410	/	50
Sevin	乙醇	300	510	2.0	0.004
磺胺噻唑钠	乙醇	315	410	1.4	1.0
磷酸马钱子碱	乙醇	290	440	1.2	0.05
苯酰磺胺	乙醇	305	405	0.7	0.0001
乙酰磺胺	乙醇	280	410	1.3	0.0001

续表

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm.)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
磺胺嘧啶	乙醇	275	410	0.7	0.01
Sulfaguamide	乙醇	305	405	0.7	0.01
磺胺甲基嘧啶	乙醇	280	405	0.7	0.0001
磺胺二甲嘧啶	乙醇	280	410	0.8	0.0001
磺 胺	乙醇	297	411	2.9	0.012
磺胺吡啶	乙醇	310	440	1.4	0.0001
磺胺噻唑	乙醇	310	420	0.9	1.0
Sulfenone	乙醇	275	390	<0.2	0.0005
2,4,5,4',-四氯二苯砜	乙醇	295	410	<0.2	0.0002
1,2,4,5-四甲基苯	EPA	275	392	4.5	1.8
蒂 巴 因	乙醇	315	500	1.0	1.0
2-噻尿嘧啶	乙醇	312	432	<0.5	0.0033
α -生育酚	乙醇	296	430	/	0.05
2-联甲苯胺	乙醇	310	510	2.2	0.02
毒 杀 芬	乙醇	240	390	1.9	0.02
2,4,5-三氯苯酚	乙醇	305	485	<0.2	0.003
2,4,5-三氯苯氧乙酸	乙醇	294	473	1.1	0.0005
2,4,5-三氯苯氧丙酸	乙醇	294	467	<0.5	0.003
苯 并 菲	乙醇	291	461	15	0.0002
Trithion	乙醇	305	430	<0.2	0.003
二吡喃乙酸乙酯	乙醇	295	460	0.6	0.01

化 合 物	溶 剂 ^a	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	磷光寿命 (秒)	检测限度 (微克/ 毫升)
Tronothane·HCl	乙醇	300	410	1.2	0.02
色氨酸	乙醇	295	440	1.5	0.002
酪氨酸 ^b	乙醇	253 291,290	394 390,389	1.9 2.8,3.3	0.02
U.C.10854	乙醇	270	385	2.9	0.002
维生素K ₁	乙醇	348	564	0.65	1.0
维生素K ₂	NHX	346	570	0.4	0.5
维生素K ₃	甲醇	339	546	0.7	0.4
维生素K ₄	乙醇	338	545	0.76	0.4
维生素K ₅	NHX	335	508	0.54	0.1
维生素K ₆	WM	338	546	0.6	0.15
维生素K ₇	WM ₁	342	542	0.6	0.07
维生素K ₈	WM ₁	340	545	/	0.08
维生素K ₉	WM	310	535	1.3	0.1
维生素K ₁₀	WM ₁	317	530	1.35	0.08
杀鼠灵	乙醇	305	460	0.8	0.01
盐酸醇宾	乙醇	290	410	7.4	0.01
~ectran	乙醇	285	440	0.45	0.005

a. 溶剂EPA = 5 : 5 : 2 体积的乙醚、异戊醇和乙醇；

WM = 9 : 1 体积的水和甲醇；

WME = 5 : 11 : 4 体积的水、甲醇和乙醇；

WM₁ = 0.2M 氢氧化钠加至WM体系中；

WM₂ = 0.1 碘化钠加至WM体系中；

WM₃ = 0.75M 碘化钠加至WM体系中；

CHX = 环己烷,

NHX = 正己烷,

WM4 = 2 : 8 体积的水和甲醇,

WM5 = 3 : 7 体积的水和甲醇。

b. 三种峰值的次序为碱性, 中性, 酸性溶液中得到的峰值。

c. 溶剂配制为每10毫升乙醇中加入2滴二乙胺。