

厦门大学硕士研究生毕业论文

化学发光分析法的应用研究

系(所、室): 化 学 系

专 业: 分 析 化 学

研究方向: 近代光分析

研究生姓名: 莫 桂 良

指导教师: 王 尊 本 副 教 授

郑 朱 梓 副 教 授

一 九 九 九 年 八 月

目 录

前 言	1
(一) 基本原理	2
一、产生化学发光的条件	2
二、一般机理	3
三、基本原理	5
四、灵敏度与检测限	6
五、常见过氧化物化学发光体系	7
六、化学发光的主要类型	9
七、化学发光的常见体系	11
八、化学发光法的应用	11
1、无机物的化学发光分析	11
2、有机物的化学发光分析	16
3、化学发光法在生物免疫方面的应用	20
(二) 实验部份	22
一、鲁米诺— I_2 体系测定 SO_3^{2-} 的研究	23
二、动力学催化化学发光法测定痕量银	31
三、金属合金中微量钨的测定	39

致 谢	46
参考文献	47
英文摘要	51

厦门大学博硕士学位论文摘要库

化学发光法(Chemiluminescence)是近年来发展起来的一种高灵敏度的痕量分析法。它在分析领域中被广泛地应用,如在环境监测、材料科学、临床分析、生命科学等方面都有许多成功的应用实例,尤其是近年来在酶分析和免疫分析等方面的研究更加拓宽了化学发光法的应用前途。

化学发光法灵敏度高、操作快速简便、仪器简单,有利于自动化连续分析和与其它仪器的联用。目前在国内已引起广泛注意和多方面的研究,每年有大量的有关文章发表。

本文是在总结化学发光法在无机物测试应用的基础上,考虑到化学发光法的局限性——专属性差,而采用了氧化—还原法与之相结合,利用氧化—还原反应与化学发光法的偶合对物质的测定方面进行一些研究。

本文的第一部分是一种常用的氧化—还原反应的应用;第二部分是讲动力学催化法与化学发光法结合,从而提高了检测能力;第三部分是应用物质的价态转换的方法以排除干扰。在化学发光法测定中,局外金属离子的干扰十分显著。在上述三种方法中都把待测组份转化为阴离子状态,而用EDTA掩蔽干扰阳离子,使测定方法获得满意的结果。

(一) 化学发光分析法的基本原理

化学发光 < CL > 是指在一些特殊的化学反应中，反应释放出的化学能使产物处于激发态，然后激发态通过辐射光子而跃回基态，再根据对化学发光中的发光强度的测量来测定反应体系中待测组份的含量。有些反应能辐射出足够的光强，有些反应发出的光太弱，要加入某些受体来增强光辐射，这种采用敏化剂的方法称为敏化化学发光法〔1〕。此外还有人用电解来增强化学发光，称为电致化学发光法〔2〕。

一、产生化学发光的条件

化学反应中要有发光行为的基本条件是：反应能产生激发态的产物，激发态通过光子辐射衰减到基态。



$$\phi_{CL} (\text{发光效率}) = \phi_{CE} \cdot \phi_{EM}$$

ϕ_{CE} = 生成激发态的分子数 / 参加反应的分子数

ϕ_{EM} = 发光分子数 / 生成激发态的分子数

所以， ϕ_{CL} = 发光分子数 / 参加反应的分子数

ϕ_{CL} 在 $0.1 - 1.0 \times 10^{-5}$ 的发光称为强化学发光。

ϕ_{CL} 在 $1.0 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-13}$ 之间的发光称为

弱化学发光

此外，因为反应能量不能在反应各阶段中积累，只能由某一单独的步骤提供。要产生可见光，能量范围必须为 $38 \sim 102 \text{ kcal/mol}$ 之间。

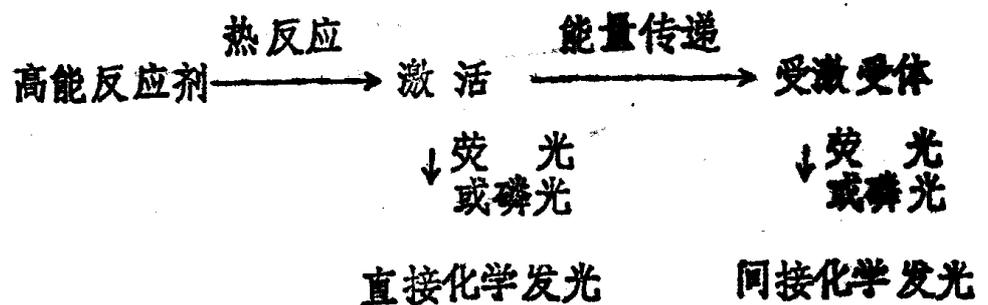
二、一般机理

七十年代初期，人们普遍认为溶液中的有机物在化学发光上遵循三个机理(3, 4, 5)。1979年 Schuster 提出了化学诱导电子交换发光的新机理(6)。

1. 裂解和重排机理

裂解和重排机理包括直接化学发光和间接化学发光两种情况。

如 1, 2 — 二氧杂环丁烷是属于单分子裂解的化学发光。Dewar 苯的重排及经典的鲁米诺化学发光是属于双分子间接化学发光。



2. 电子转移机理

反应中自由基阳离子失去一个电子或电子加到自由基阴离子

ACT: 活化物质。 Peroxidase: 过氧化物

首先从一个电子给予体把一个电子转移到高能量的有机分子中，随后重排或裂解（失去中性裂片 CO_2 等），还原性的氧化物以阳离子形式转变成具有高还原性的中间体，随着电荷湮灭产生活化剂 ACT 的激发态 ACT^* 。从激发态跃回基态辐射光子，这种基质与活化剂间双分子间接发光，称之为活化化学发光。

三、基本原理

化学发光法测定是以直接测量发光强度来进行检测的。

$$I_{CL}(t) = \phi_{CL} \cdot \frac{dc}{dt}$$

$I_{CL}(t)$ 以每秒产生的光电子数表示。

若反应是一级的， I_{CL} 与浓度成正比，可以通过测峰高值来确定待测物质的含量。

另一种方法是测定峰面积

$$\int_{t_1}^{t_2} I_{CL}(t) \cdot dt = \phi_{CL} \int_{t_1}^{t_2} \frac{dc}{dt} \cdot dt$$

为了准确测定应达到下列三个要求：

- 1、理想状态下化学发光是专属的；
- 2、出现不同的激发态时要进行光分辨；
- 3、参加反应的试剂可以与各种分析物起反应而发光。

四、灵敏度与检测限

- 1、灵敏度不是仪器可检测到的最低浓度，其理论值计算如下：

$$I_{CL} \text{ (可测)} = 3\sqrt{N(t)}$$

$N(t)$ ——每秒背景的光子计数。

I_{CL} ——最小光通量。

$$I_{CL} \text{ (可测)} = \frac{dc(t)}{dt} \cdot \phi_{det} \cdot \phi_{geo} \cdot \phi_{CA}$$

$$\phi_{det} = \frac{\text{测到的光子数}}{\text{碰撞仪器的光子数}}$$

$$\phi_{geo} = \frac{\text{碰撞仪器的光子数}}{\text{反应辐射的光子数}}$$

所以，可测最低浓度为：

$$C_{\min} = \frac{3 \int_{t_1}^{t_2} \sqrt{N(t)} dt}{\phi_{\text{det}} \cdot \phi_{\text{geo}} \cdot \phi_{\text{cl}} (e^{-Kt_1} + Kt_2)}$$

ϕ_{geo} 可达 0.5

假设 $\phi_{\text{det}} = 0.2$, $\phi_{\text{geo}} = 0.2$, $\phi_{\text{cl}} = 0.1$

$N(t) = 100$, $K > 1$, $t_1 - t_2 = 60$

$$C_{\min} = 7.5 \times 10^{-18} \text{ mol}$$

所以说化学发光法有很高的灵敏度。

2. 检测限

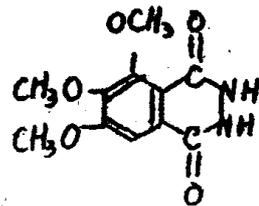
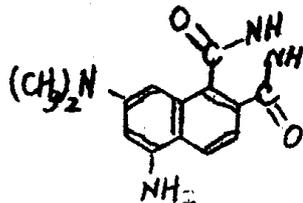
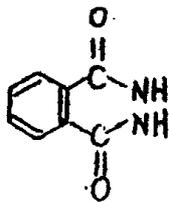
$$DL = \frac{3S}{r}$$

S —— 空白信号的标准偏差

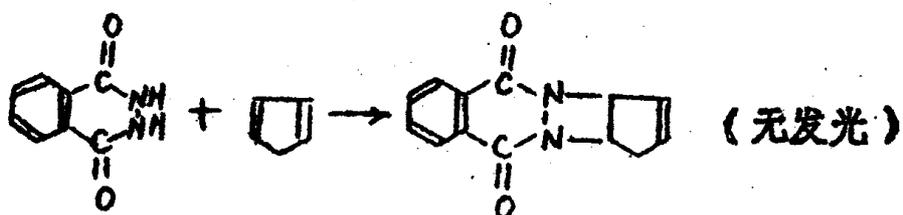
r —— 被测组分的校正曲线斜率

五. 常见的过氧化物化学发光试剂

1. 酰肼类: 鲁米诺或鲁米诺的衍生物

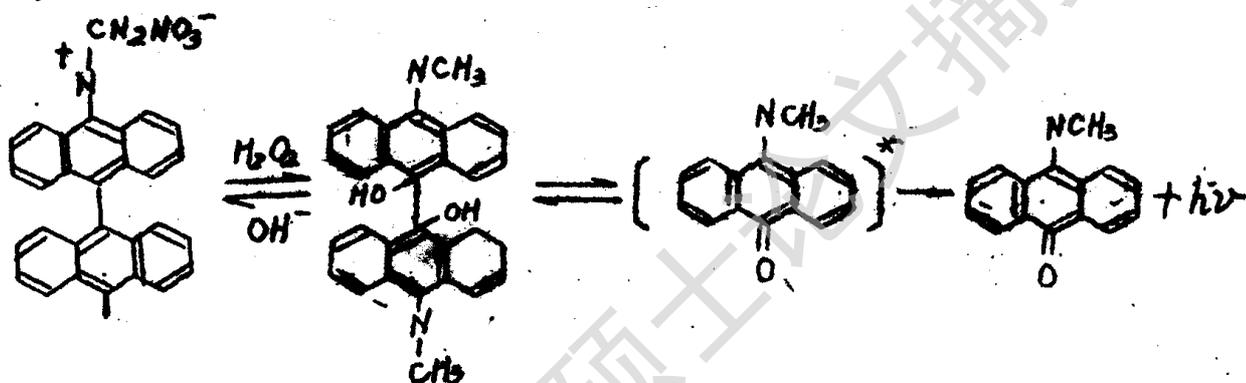


若H被取代则无化学发光， H^+ 能使鲁米诺化学发光熄灭。

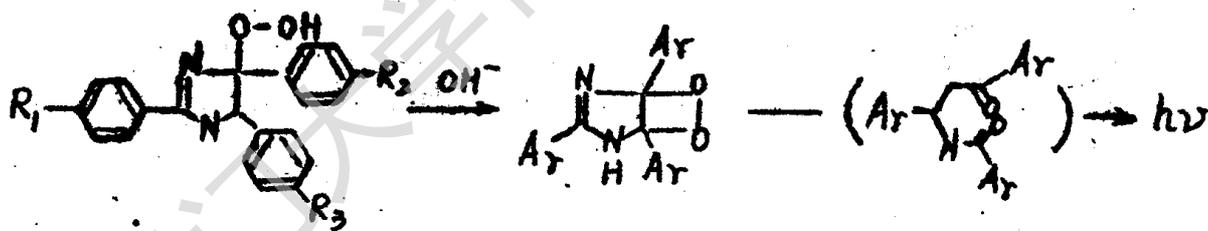


2. 光淬剂 (Lucigenin, N, N-二甲基-9,9-联吡啶硝酸盐)

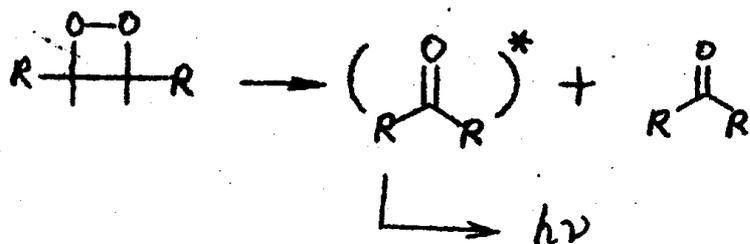
吡啶硝酸盐)



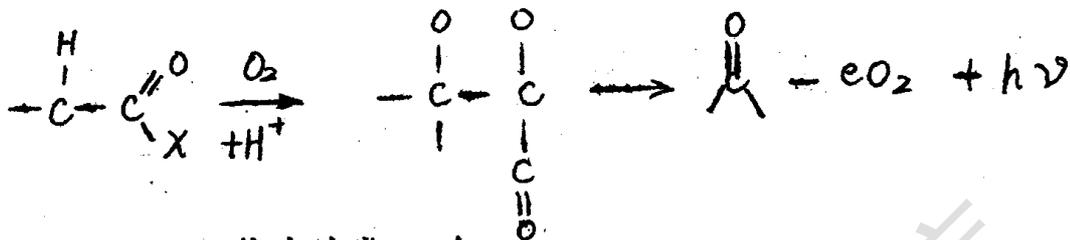
3. 亚胺类 (以洛芬碱为例)



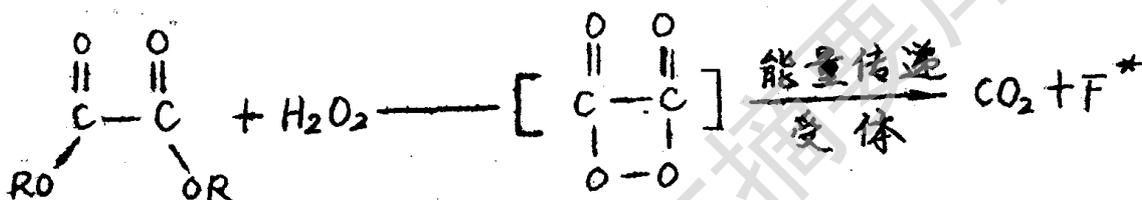
4. 1,2-二氧杂环丁烷



5. 1,2 - 二氧杂环丁烷 - 3 - 酮类



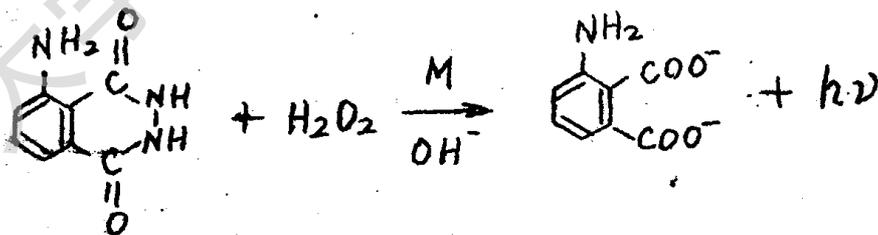
6. 过氧草酸酯类



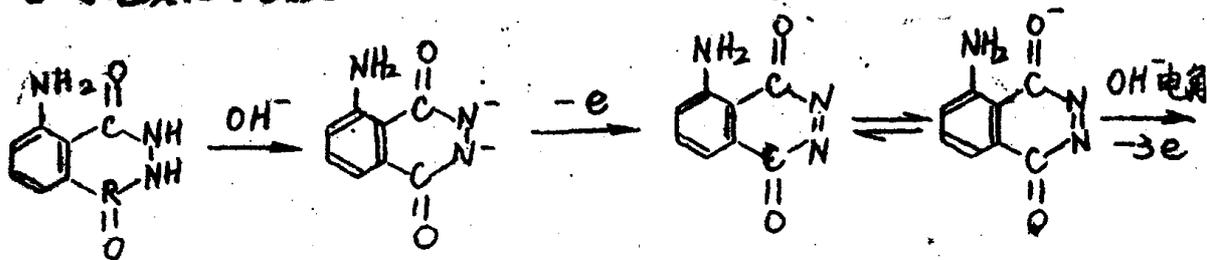
此外还有酚类和罗丹明类等也能产生化学发光。

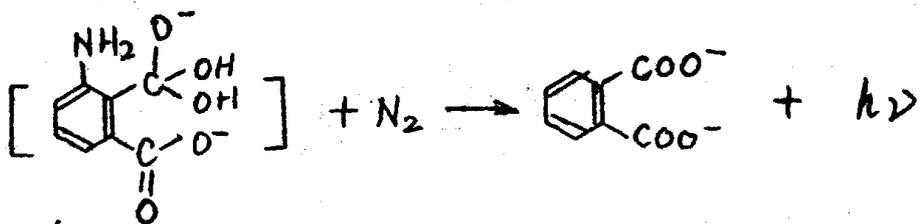
六、化学发光的主要类型

1. 直接反应产生光辐射

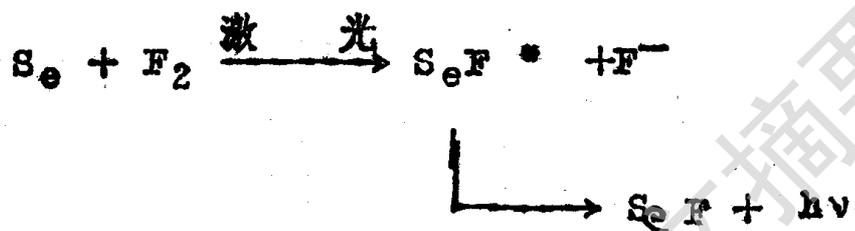


2. 电致化学发光

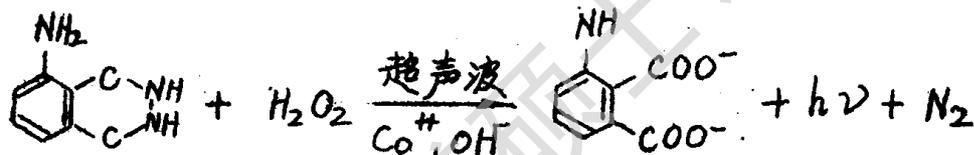




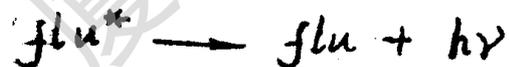
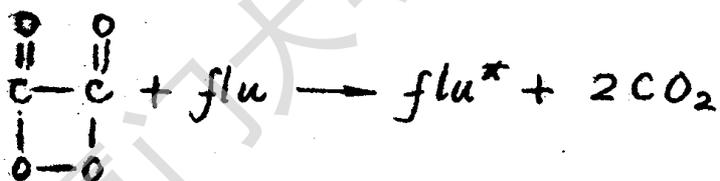
3. 光致化学发光



4. 声致化学发光



5. 能量转移化学发光



flu — 荧光物质

此外还有许多其他化学发光类型，如亚稳态电子传递和卤化物溶解发光等，在化学分析中较少用，不拟多加讨论。

七、化学发光的常见体系

化学发光法中应用的体系很多，有很多是专属的如酶反应(7)，烯烃的测定方法， $O_3 + CH_2 = CH_2 \rightarrow C_2H_4O_3 + hv$ 。对专属体系我们不做讨论，下面仅以在液相反应中最常见的体系加以说明。

1. Luminol + Oxidant
2. Oxidate Heter + Oxidant
3. Lucifense + H_2O_2
4. Glucose 催化反应
5. 没食子酸 + Oxidant
6. 罗丹酸B + Oxidant

八、化学发光法的应用

化学发光法有广泛的应用范围，可在气相(8)、液相(2)、固相和异相(9)中进行测定，最常使用的是液相中的测定。

1. 无机物的化学发光分析

液相中化学发光法用于无机物测定已有很长时间和很多的实

例。许多金属离子都能对化学发光体系起催化作用。而大多数的非金属却没有这种性质。只有通过间接的反应，或作为氧化—还原作用来测定。以下进行分类讨论。

① 无机物的直接测定

某些无机氧化剂能直接氧化发光试剂而被测定。如 H_2O_2 (10) O_2 (11)。卤素 (12) 等无机物的测定。用鲁米诺体系测定水中的溶解氧，可检测到 $0-25 \text{ nmol}$ ，测 NO_2 (13) 可达 ppt 级的检测限。当 H_2O_2 存在时游离氯或次氯酸盐的检测限为 16 ug/l (14)。碘的测定检测限可达 10^{-9} M (15)。

② 通过反应进行转换测定

有些无机物不能直接用化学发光法测定，但可以通过其他反应转换为可直接测定的状态。硫化物可利用它和碘的氧化—还原反应进行间接测定 (16)。痕量的碘离子可用与 AuCl_4^- 反应而降低 AuCl_4^- 的催化活性来测定 (15)。氰酸根可用鲁米诺 Cu^{2+} 体系测定。

③ 无机离子的催化测定

根据无机离子对发光体系有催化活性。其存在可以改变发光的强度。从而可进行无机离子的检测。如在 H_2O_2 —鲁米诺发光体系中， Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Hg^{2+} (17-21) 等许多金属离子可被测定。灵敏度都很高。

而非金属离子对化学发光体系的催化作用有很好的专属性。

$S_2O_3^{2-}$ (22) 等的测定就是一个很好的例子。

④ 根据动力学性质差异进行测定

在同一条件下，许多金属离子可同时对同一化学发光体系进行催化或抑制，给选择性测定某一特定离子带来困难，此时可采用不同离子在某些反应中的动力学性质的差异进行测定。Cr(III) 测定是一个很好的例子(23)，Cr(III) 与 EDTA 络合速度缓慢，在几分钟内几乎无反应，测定 Cr(III) 时可加入 EDTA 掩蔽去其他离子的干扰，获得较好的结果。

⑤ 通过氧化——还原反应改变价态

无机离子不同的价态有不同的化学发光行为，可根据测定需要，加入氧化剂或还原剂进行价态改变。I⁻ 不能对鲁米诺进行氧化，但如果预先氧化 I⁻ 成 I₂，便可对 I⁻ 进行测定。CrO₄²⁻ 也不能与鲁米诺进行发光反应，把 CrO₄²⁻ 转化成 Cr(III) 便可对 CrO₄²⁻ 进行测定(24)。

有些共存离子相互间干扰严重，如本文中 Mn 的测定，如果不掩蔽去干扰离子，测定 Mn 是不可能的，但又很难找到一种合适的掩蔽剂，若预先将 Mn 氧化成 MnO₄⁻，再加入 EDTA 掩蔽阳离子，测定 Mn 就变为容易和简捷了。

⑥ 其他方法

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库