

# 罗丹明 B 荧光法检测湖水中铅离子

贾超凡<sup>1,2</sup> 张凤娇<sup>2,3</sup> 徐新秋<sup>2,3</sup> 闫业浩<sup>2</sup> 魏胤<sup>2</sup> 张璟<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>滨州医学院公共卫生学院,烟台 264000;<sup>2</sup>济宁医学院公共卫生学院,济宁 272013;

<sup>3</sup>山东第一医科大学公共卫生学院,济南 250000)

**摘要** **目的** 利用罗丹明 B 荧光淬灭高灵敏度检测湖水中铅离子(Pb<sup>2+</sup>)。 **方法** 基于配位作用,罗丹明 B 与 Pb<sup>2+</sup> 结合后,在 577 nm 处的荧光强度显著降低。通过优化实验条件,记录荧光强度变化,建立荧光强度与 Pb<sup>2+</sup> 浓度的线性关系,并评价其在实际样品检测中的准确性和可靠性。 **结果** Pb<sup>2+</sup> 在 45~55 μg/mL 浓度范围内与荧光强度呈良好的线性关系,线性方程为  $y = -25.8761x + 3265.9653$ , 相关系数  $R^2$  为 0.9746,检出限为 1 μg/mL。选择性试验表明,罗丹明 B 对 Pb<sup>2+</sup> 具有较高的选择性,其他常见金属离子(如 K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、Zn<sup>2+</sup> 等)对检测结果的干扰较小。在 45 μg/mL 和 55 μg/mL 2 个浓度水平下,平均回收率为 93.40%~99.60%,相对标准偏差为 0.99%~2.33%。 **结论** 该方法操作便捷,样品处理简单,试剂用量少,选择性好,灵敏度高,能够快速、准确地检测湖水中的 Pb<sup>2+</sup>,具有良好的实际应用潜力。

**关键词** 罗丹明 B; 荧光法; 铅离子

中图分类号:O652 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2025)04-125-04

## Rhodamine B fluorescence method for detecting lead ions in lake water

JIA Chaofan<sup>1,2</sup>, ZHANG Fengjiao<sup>2,3</sup>, XU Xinqiu<sup>2,3</sup>, YAN Yehao<sup>2</sup>, WEI Yin<sup>2</sup>, ZHANG Jing<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>School of Public Health, Binzhou Medical University, Yantai 264000, China;

<sup>2</sup>School of Public Health, Jining Medical University, Jining 272013, China;

<sup>3</sup>School of Public Health, Shandong First Medical University, Jinan 250000, China)

**Abstract: Objective** To develop a highly sensitive detection method for lead ions (Pb<sup>2+</sup>) in lake water using Rhodamine B fluorescence quenching. **Methods** Based on coordination interactions, the fluorescence intensity of Rhodamine B at 577nm significantly decreases upon binding with Pb<sup>2+</sup>. By optimizing experimental conditions and recording fluorescence intensity changes, a linear relationship between fluorescence intensity and Pb<sup>2+</sup> concentration was established. The accuracy and reliability of the method for real sample detection were also evaluated. **Results** A good linear relationship between Pb<sup>2+</sup> concentration and fluorescence intensity was observed in the range of 45~55 μg/mL, with a linear equation of  $y = -25.8761x + 3265.9653$  and a correlation coefficient  $R^2 = 0.9746$ . The detection limit was 1 μg/mL. Selectivity tests showed that Rhodamine B exhibited high selectivity for Pb<sup>2+</sup>, with minimal interference from common metal ions (eg, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, Zn<sup>2+</sup>). At spiked concentrations of 45 μg/mL and 55 μg/mL, the average recovery rate ranged from 93.40% to 99.60%, with relative standard deviations of 0.99% - 2.33%. **Conclusion** This method is operationally simple, requires minimal sample preparation and reagent usage, and demonstrates excellent selectivity and sensitivity. It enables rapid and accurate detection of Pb<sup>2+</sup> in lake water and shows strong potential for practical applications.

**Keywords:** Rhodamine B; Fluorescence method; Lead ion

Pb<sup>2+</sup>是一种不易分解,环境持久性的有毒重金属,可通过食物链富集危害人体健康,慢性铅中毒已经成为危害人类健康的重大公共卫生问题<sup>[1-2]</sup>。含铅杀虫剂通过雨水冲刷农田进入湖水、肥料通过土壤渗透进入湖水、城市排放废水和垃圾填埋场渗滤液污染地下水进而污染周围湖水<sup>[3]</sup>。目前,我国部分湖泊受农业污染湖水铅含量较高<sup>[4-5]</sup>。Pb<sup>2+</sup>对湖泊生态系统和人类健康构成潜在威胁,不容忽视。为保护水环境和维持生态平衡,采取有效的监测与治理措施至关重要。

目前,Pb<sup>2+</sup>检测方法有很多种,其中包括原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、电感耦合等离子体质谱法<sup>[6-7]</sup>。但这些方法面临仪器成本高、操作复杂、易受环境干扰等问题。荧光分光光度法具有操作简单快捷、选择性好、设备易得等优势,在化学研究中被广泛使用<sup>[8]</sup>。罗丹明 B 分子中含有羧基(C=O),能够与 Pb<sup>2+</sup>通过配位键形成稳定络合物,从而导致荧光强度的变化。近年来,罗丹明 B 已被广泛用于重金属离子的检测,显示出良好的选择性和灵敏度。本研究利用罗丹明 B,建立了快速灵敏检测湖水中 Pb<sup>2+</sup>的荧光法,系统研究其选择性、抗干扰性和实际应用性能。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

**1.1.1 仪器** F-320 荧光分光光度计(天津港东科技股份有限公司);TU-1901 双光束紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技有限公司);针式过滤器(泰美生物科技有限公司)。

**1.1.2 试剂** 罗丹明 B(Rhodamine B,Rh B,分析纯,上海麦克林生化科技有限公司,81-88-9);铅、钾、镁、锰、钠、锶、锌离子标准溶液(Pb<sup>2+</sup>,K<sup>+</sup>,Mg<sup>2+</sup>,

Mn<sup>2+</sup>,Na<sup>+</sup>,Sr<sup>2+</sup>,Zn<sup>2+</sup>,1 000 μg/mL,天津傲然精细化工研究所,GB/T602-2002);分析实验用水均为超纯水。

### 1.2 方 法

**1.2.1 罗丹明 B 储备液的配制** 准确称量罗丹明 B 固体粉末 0.0 050 g 用超纯水溶解并定容至 100 mL 容量瓶中,配制得到 50 μg/mL 的罗丹明 B 储备液。

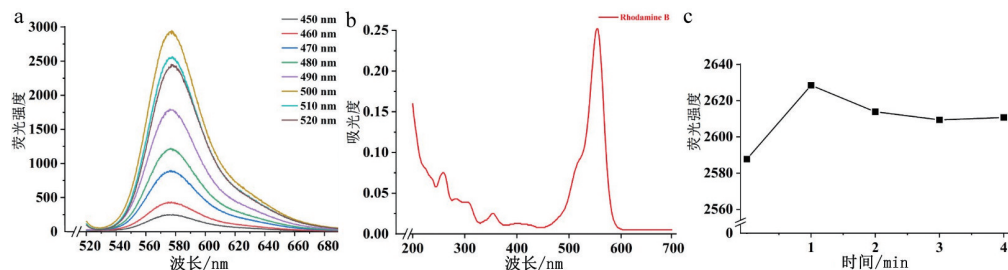
**1.2.2 样品前处理** 湖水收集后置于 50 mL 离心管中 8 000 r/min 离心 10 min 去除水中较大颗粒物,在用 0.22 μm 的水系滤膜过滤去除悬浮物和微生物,Pb<sup>2+</sup>在水中以颗粒态存在,用滤膜过滤后可得到溶解态金属离子,避免颗粒态离子影响测定。

**1.2.3 试样的测定** 取 20 μL 罗丹明 B 溶液(50 μg/mL)于 5 mL 的容量瓶中,分别加入 175、200、225、250、275 μL Pb<sup>2+</sup>标准溶液(1 000 μg/mL),加入超纯水定容至刻度,涡旋摇匀分别得到 35、40、45、50、55 μg/mL 浓度的 Pb<sup>2+</sup>。放置 1 min,在荧光分光光度计上设置激发波长为 500 nm,测定其在 520~690 nm 的荧光强度,绘制 Pb<sup>2+</sup>荧光强度-摩尔浓度的标准曲线。

## 2 结果与分析

### 2.1 罗丹明 B 的表征及对 Pb<sup>2+</sup>的响应时间

如图 1a 所示,测量罗丹明 B 在 450~520 nm 不同激发波长下的荧光光谱,结果显示 500 nm 时荧光强度最强,所以后续实验采用 500 nm 为激发波长。罗丹明 B 在 260、310、355、415、553 nm 处有吸收,其中,在 553 nm 处吸收最强,结果见图 1b。把 20 μL 罗丹明 B 溶液加入 20 μL Pb<sup>2+</sup>,记录其在 0~4 min 的荧光强度,1 min 时荧光强度最强,那 1 min 作为后续实验的响应时间(图 1c)。

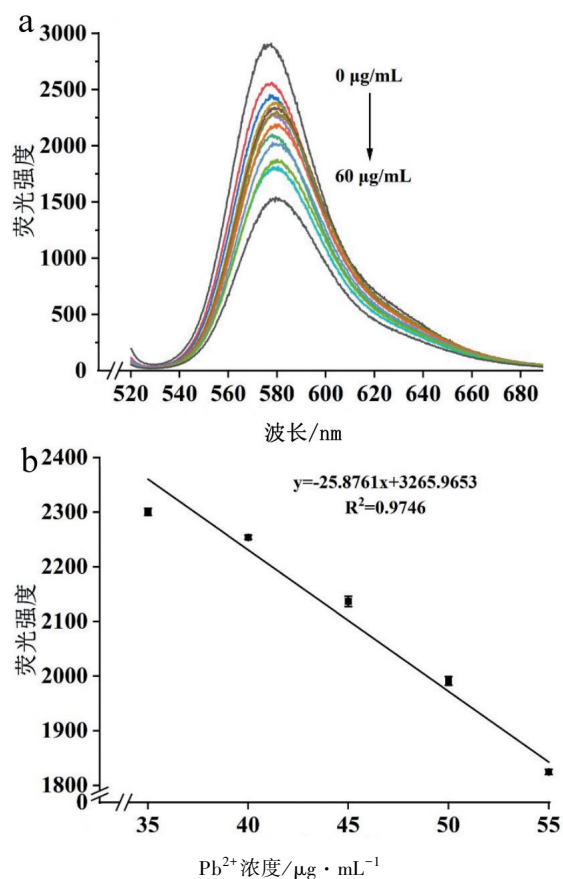


注:a.罗丹明 B 在不同激发波长下的荧光光谱;b.罗丹明 B 的可见紫外吸收光谱;c.罗丹明 B 溶液中加入 Pb<sup>2+</sup>后的响应时间。

图 1 罗丹明 B 的表征及对 Pb<sup>2+</sup>的响应时间

## 2.2 罗丹明 B 对 Pb<sup>2+</sup> 的荧光检测及响应特性

首先,罗丹明 B 在不同浓度的 Pb<sup>2+</sup> 相互作用后的荧光光谱。结果如图 2a 所示,罗丹明 B 的荧光强度较强,然而,随着 Pb<sup>2+</sup> 浓度的增加,577 nm 处的荧光强度逐渐减弱。如图 2b 所示,其荧光强度与 Pb<sup>2+</sup> 浓度(35~55 μg/mL)之间呈现良好的线性关系,线性方程为  $y = -25.8761x + 3265.9653$ ,相关系数 ( $R^2$ ) = 0.9746,实验中的测量误差、仪器扫描速度过低以及重现性尚有提升空间,降低了其线性相关系数。根据公式“ $LOD = 3\sigma/K$ ”,计算出罗丹明 B 对 Pb<sup>2+</sup> 的检测限(limit of detection, LOD) 为 1 μg/mL。



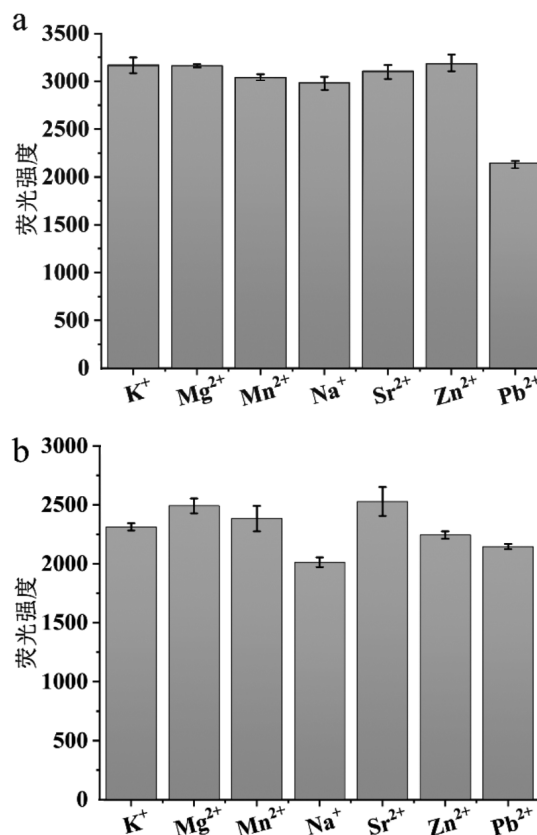
注:a. 罗丹明 B 与不同浓度 Pb<sup>2+</sup> 作用后的荧光光谱图;b. 罗丹明 B(0.2 μg/mL) 在 577 nm 处荧光强度与 Pb<sup>2+</sup> 浓度的线性关系图。

图 2 罗丹明 B 对 Pb<sup>2+</sup> 的荧光检测

## 2.3 罗丹明 B 对 Pb<sup>2+</sup> 的选择性和干扰性研究

将 K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、Si<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup> 等金属离子分别与罗丹明 B 溶液混合,并进行光谱测试。未添加 Pb<sup>2+</sup> 时,荧光强度在 577nm 处无明显变化,而加入 Pb<sup>2+</sup> 后,该波长的荧光强度显著降低,表明

罗丹明 B 对 Pb<sup>2+</sup> 具有较强的选择性(图 3a)。随后,进一步考察了罗丹明 B 在竞争环境下对 Pb<sup>2+</sup> 的检测能力。存在其他金属离子的情况下,测定混合体系中 Pb<sup>2+</sup> 的荧光强度。其它金属离子对 Pb<sup>2+</sup> 的检测结果影响较小,罗丹明 B 具备良好的抗干扰能力。根据软硬酸碱理论(HSAB)可以得出除了 Pb<sup>2+</sup> 的其它金属离子属于硬酸,罗丹明 B 更易与软酸中的 Pb<sup>2+</sup> 反应(图 3b)。



注:a 罗丹明 B(0.2 μg/mL) 与不同金属离子(100 μg/mL) 作用后在 577 nm 处的荧光强度;b 罗丹明 B(0.2 μg/mL) 与 Pb<sup>2+</sup>(50 μg/mL) 作用后,再与不同金属(100 μg/mL) 作用后在 577 nm 处荧光强度。

图 3 罗丹明 B 对 Pb<sup>2+</sup> 检测的选择性

## 2.4 湖水中铅的检测

选用济宁太白湖湖水来考察罗丹明 B 在实际应用中对 Pb<sup>2+</sup> 检测的性能。通过将罗丹明 B 溶液与湖水混合并加标浓度 45 μg/mL 和 55 μg/mL,使用荧光分光光度计记录 577 nm 处的荧光强度值,并根据图 2b 中建立的荧光强度与 Pb<sup>2+</sup> 浓度的线性关系方程“ $y = -25.8761x + 3265.9653$ ”计算湖水中 Pb<sup>2+</sup> 的浓度。湖水样本中,当加标浓度为 0 时,实测浓度为 0。当加标浓度为 45 μg/mL 时,实测

浓度为 42.03  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 相对标准偏差 (RSD) 为 0.99%, 回收率为 93.40%。当加标浓度为 55  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 实测浓度为 54.78  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 相对标准偏差 (RSD) 为 2.33%, 回收率为 99.60%。

### 3 结论

本研究用罗丹明 B 对  $\text{Pb}^{2+}$  的检测具有响应速度快, 1 min 反应完成, 选择性良好, 抗干扰能力强。此外, 罗丹明 B 的荧光强度与  $\text{Pb}^{2+}$  浓度呈良好的线性关系, 因此可通过荧光强度的变化测定  $\text{Pb}^{2+}$  浓度。最终, 罗丹明 B 成功应用于太白湖湖水中  $\text{Pb}^{2+}$  的检测, 结果显示其具有较高的回收率和较低的相对标准偏差。综上, 本研究用罗丹明 B 检测了  $\text{Pb}^{2+}$ , 该方法具有操作简单、选择性好、特异度高、试剂用量少等优点, 为湖水中  $\text{Pb}^{2+}$  的快速灵敏检测提供了一种新方法。

利益冲突: 所有作者均申明不存在利益冲突。

### 参考文献:

- [1] 蒋迪尧, 吴肖肖, 徐婧婧. 食用盐中铅含量的检测技术研究进展[J]. 食品安全导刊, 2024(29): 146-148.
- [2] 董小龙, 张敏娟. 重金属铅对桑树种子萌发胁迫及缓解作用研究[J]. 延安大学学报(自然科学版), 2024, 43(4): 21-27. DOI: 10.13876/J.cnki.ydnse.240048.
- [3] Han XH, Zhao XW, Huang K, et al. A lysosome-targeting rhodamine fluorescent probe for  $\text{Cu}^{2+}$  detection and its applications in test kits and zebrafish imaging [J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2025, 325: 125154. DOI: 10.1016/j.saa.2024.125154.
- [4] Song Y, Ma Q, Cheng H, et al. Simultaneous enrichment of inorganic and organic species of lead and mercury in pg L-1 levels by solid phase extraction online combined with high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2021, 1157: 338388. DOI: 10.1016/j.aca.2021.338388.
- [5] Deng Y, Chen YR, Zhou XD. Simultaneous sensitive detection of lead(II), mercury(II) and silver ions using a new nucleic acid-based fluorescence sensor [J]. Acta Chim Slov, 2018, 65(2): 271-277. DOI: 10.17344/acsi.2017.3620.
- [6] Zeng L, Wu M, Chen S, et al. Direct and sensitive determination of Cu, Pb, Cr and Ag in soil by laser ablation microwave plasma torch optical emission spectrometry [J]. Talanta, 2022, 246: 123516. DOI: 10.1016/j.talanta.2022.123516.
- [7] Durukan I, Yildiz B. Ionic liquid-solidified floating organic drop microextraction for the preconcentration of lead in environmental water samples prior to its determination with electrothermal atomic absorption spectrometry [J]. Molecules, 2024, 29(17): 4189. DOI: 10.3390/molecules29174189.
- [8] Kim YJ, Jang M, Roh J, et al. Rhodamine-based cyclic hydroxamate as fluorescent pH probe for imaging of lysosomes [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(20): 15073. DOI: 10.3390/ijms242015073.

(收稿日期 2024-11-18)

(本文编辑: 石俊强)

## 本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计。应交代统计要设计的名称和主要做法, 如调查设计具体类型、实验设计类型等。主要围绕着 4 个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明, 尤其是要交代如何控制非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述。用  $\bar{x} \pm s$  表达近似服从正态分布的定量资料, 用  $M(QR)$  表达呈偏态分布的定量资料; 用统计表时, 须将数据的意义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数字原则; 用相对数时, 分母不宜小于 20, 须注意区分百分率与百分比。

3. 统计学分析方法。对于定量或定性资料, 应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选择合适的统计学分析方法, 不应盲目套用  $t$  检验、单因素方差分析或  $\chi^2$  检验; 对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型; 对具有重复实验数据的回归分析资料, 不应简单化处理, 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计学分析方法, 以便对因素之间的交互作用和对指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的表达。当  $P < 0.05$  (或  $P < 0.01$ ) 时, 应说明对比组之间的差异有统计学意义, 而不应该说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别; 应写明所用统计学分析方法的具体名称(如: 成组设计资料的  $t$  检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的  $q$  检验等), 统计量的具体值(如  $t$  值,  $x$  值,  $F$  值等), 应尽可能给出具体的  $P$  值; 当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部