



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111257291 A

(43)申请公布日 2020.06.09

(21)申请号 202010063875.1

(22)申请日 2020.01.20

(71)申请人 武汉理工大学

地址 430070 湖北省武汉市洪山区珞狮路
122号

(72)发明人 韩颖超 张小君 廖丽璇

(74)专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限
公司 42102

代理人 崔友明 闭钊

(51) Int. Cl.

G01N 21/64(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种磷酸根离子的定量检测方法及其应用

(57)摘要

本发明提供一种磷酸根离子的定量检测方法及其应用,该方法基于聚丙烯酸(PAA)与金属离子间的络合反应,制备PAA-Ca²⁺(Eu³⁺)络合物,然后,将其与特定浓度的磷酸根离子(PO₄³⁻)标准溶液按比例混合,利用荧光分光光度计测试荧光强度,建立Eu³⁺荧光强度增幅率-PO₄³⁻浓度线性关系,最后,利用该线性关系,测定待测溶液中PO₄³⁻浓度。本发明方法简便易操作,成本低,可用于化学、生物、医学、环境等领域中磷酸根浓度的检测,且本发明基于Eu³⁺发射带宽窄、光化学稳定性高的特性,使得本发明方法对PO₄³⁻的测定具有较高的灵敏度和稳定性。

1. 一种磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,包括以下步骤:

1) 将 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合后,在室温下,加入聚丙烯酸溶液,搅拌混合,然后,用氨水调节pH至6.0~8.0,进行络合反应,得到PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体;

2) 将 PO_4^{3-} 溶液稀释成系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液,然后,取所述系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液与所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应后,测试系列标准反应溶液的荧光强度,计算系列标准反应溶液的荧光强度增幅率,并建立荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系;

3) 取待测溶液,与所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应后,测试待测反应溶液的荧光强度,计算待测反应溶液的荧光强度增幅率,然后,根据所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度。

2. 根据权利要求1所述的磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,所述步骤3)中取待测溶液,与所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应后,测试待测反应溶液的荧光强度,计算待测反应溶液的荧光强度增幅率,然后,根据所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度,包括:

a) 根据所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,取线性关系中最低浓度所对应的荧光强度增幅率为 a_0 ,最高浓度所对应的荧光强度增幅率为 b_0 ,确定可靠性荧光强度增幅率范围 $a\sim b$,其中, $a=a_0+(b_0-a_0)\times 15\%$, $b=b_0-(b_0-a_0)\times 15\%$;

b) 取待测溶液,与所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应后,,测试待测反应溶液的荧光强度,计算待测反应溶液的荧光强度增幅率;

c) 将所述待测反应溶液的荧光强度增幅率与所述可靠性荧光强度增幅率范围 $a\sim b$ 进行比较;

d) 若所述待测反应溶液的荧光强度增幅率在所述可靠性荧光强度增幅率范围 $a\sim b$ 内,则将所述待测反应溶液的荧光强度增幅率代入所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度;

e) 若所述待测反应溶液的荧光强度增幅率高于所述可靠性荧光强度增幅率范围 $a\sim b$,则将待测溶液稀释直至待测反应溶液的荧光强度增幅率在所述可靠性荧光强度增幅率范围 $a\sim b$ 内,然后,将稀释后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率代入所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到稀释后得到的待测反应溶液的 PO_4^{3-} 浓度,再通过稀释倍数,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度;

f) 若所述待测反应溶液的荧光强度增幅率低于所述可靠性荧光强度增幅率范围 $a\sim b$,则增加待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度直至待测反应溶液的荧光强度增幅率在所述可靠性荧光强度增幅率范围 $a\sim b$ 内,然后,将浓度增加后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率代入所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到浓度增加后得到的待测反应溶液的 PO_4^{3-} 浓度,再通过减去加入的 PO_4^{3-} 的量,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度。

3. 根据权利要求1所述的磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,所述步骤1)中配制所述 Ca^{2+} 溶液的钙源为二水氯化钙、四水硝酸钙中的一种;步骤1)中配制所述 Eu^{3+} 溶液的铕源为六水硝酸铕、六水氯化铕中的一种。

4. 根据权利要求1所述的磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,所述步骤1)中 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合后的混合溶液中Ca和Eu的总摩尔浓度为0.07515M, Eu的物质的量与Ca

和Eu的总物质的量的比为5%~10%;所述步骤1)中聚丙烯酸溶液中羧基的物质的量与Ca²⁺溶液和Eu³⁺溶液混合后的混合溶液中Ca和Eu的总物质的量的比为2.0~4.0。

5. 根据权利要求1所述的磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,所述步骤1)中PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体的粒径为2~3nm。

6. 根据权利要求1所述的磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,所述步骤2)中配制所述PO₄³⁻溶液的磷源为磷酸氢二铵、十二水磷酸氢二钠中的一种。

7. 根据权利要求1所述的磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,所述步骤2)中系列特定浓度的PO₄³⁻标准溶液中PO₄³⁻的物质的量与Ca²⁺溶液和Eu³⁺溶液混合后的混合溶液中Ca和Eu的总物质的量比≤0.1。

8. 根据权利要求1所述的磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,所述步骤2)中所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体与所述PO₄³⁻标准溶液的反应时间为6-8h;所述步骤3)中所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体与所述待测溶液的反应时间为6-8h。

9. 根据权利要求1所述的磷酸根离子的定量检测方法,其特征在于,所述步骤2)中所述系列标准反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI 和所述步骤3)中所述待测反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI ,均通过下式计算得到:

$$\Delta I = (I - I_0) / I_0,$$

式中,I表示系列标准反应溶液和待测反应溶液的荧光强度,I₀表示PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体与PO₄³⁻浓度为0的标准溶液混合后的荧光强度。

10. 权利要求1~9任一项所述的磷酸根离子的定量检测方法在生物体或环境中磷酸根定量检测方面的应用。

一种磷酸根离子的定量检测方法及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及分析检测技术领域,特别涉及一种磷酸根离子的定量检测方法及其应用。

背景技术

[0002] 磷在生物、环境以及化学循环过程中都发挥着重要作用。水体中无机磷含量超标可引起水体磷污染严重;生物体内无机磷参与多种代谢,促进碳水化合物的合成、转化和转运;无机磷是肾功能的指标之一,关于磷的讨论常见于慢性肾脏病和透析患者。因此,磷酸根离子的定量检测具有重要意义。

[0003] 目前,常用的无机磷的检测方法有磷钼酸盐法、ICP法等。磷钼酸盐法是无机磷与钼酸铵作用,然后用还原剂呈色定量,但还原剂种类多且易氧化,而导致显色不稳定。ICP法基于每种元素独特的发射光谱,可以同时检测多种元素,但是测试过程对样品要求较高,仪器成本高。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明旨在提出一种磷酸根离子的定量检测方法,以解决现有磷酸根离子检测显色不稳定、检测成本高的问题。

[0005] 为达到上述目的,本发明的技术方案是这样实现的:

[0006] 一种磷酸根离子的定量检测方法,包括以下步骤:

[0007] 1) 将 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合后,在室温下,加入聚丙烯酸溶液,搅拌混合,然后,用氨水调节pH至6.0~8.0,进行络合反应,得到PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体;

[0008] 2) 将 PO_4^{3-} 溶液稀释成系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液,然后,取所述系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液与所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应后,测试系列标准反应溶液的荧光强度,计算系列标准反应溶液的荧光强度增幅率,并建立荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系;

[0009] 3) 取待测溶液,与所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应后,测试待测反应溶液的荧光强度,计算待测反应溶液的荧光强度增幅率,然后,根据所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度。

[0010] 可选地,所述步骤3)中取待测溶液,与所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应后,测试待测反应溶液的荧光强度,计算待测反应溶液的荧光强度增幅率,然后,根据所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度,包括:

[0011] a) 根据所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,取线性关系中最低浓度所对应的荧光强度增幅率为 a_0 ,最高浓度所对应的荧光强度增幅率为 b_0 ,确定可靠性荧光强度增幅率范围 $a\sim b$,其中, $a=a_0+(b_0-a_0)\times 15\%$, $b=b_0-(b_0-a_0)\times 15\%$;

[0012] b) 取待测溶液,与所述PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~

10.0,充分反应后,测试待测反应溶液的荧光强度,计算待测反应溶液的荧光强度增幅率;

[0013] c) 将所述待测反应溶液的荧光强度增幅率与所述可靠性荧光强度增幅率范围a~b进行比较;

[0014] d) 若所述待测反应溶液的荧光强度增幅率在所述可靠性荧光强度增幅率范围a~b内,则将所述待测反应溶液的荧光强度增幅率代入所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度;

[0015] e) 若所述待测反应溶液的荧光强度增幅率高于所述可靠性荧光强度增幅率范围a~b,则将待测溶液稀释直至待测反应溶液的荧光强度增幅率在所述可靠性荧光强度增幅率范围a~b内,然后,将稀释后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率代入所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到稀释后得到的待测反应溶液的 PO_4^{3-} 浓度,再通过稀释倍数,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度;

[0016] f) 若所述待测反应溶液的荧光强度增幅率低于所述可靠性荧光强度增幅率范围a~b,则增加待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度直至待测反应溶液的荧光强度增幅率在所述可靠性荧光强度增幅率范围a~b内,然后,将浓度增加后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率代入所述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,得到浓度增加后得到的待测反应溶液的 PO_4^{3-} 浓度,再通过减去加入的 PO_4^{3-} 的量,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度。

[0017] 可选地,所述步骤1)中配制所述 Ca^{2+} 溶液的钙源为二水氯化钙、四水硝酸钙中的一种;步骤1)中配制所述 Eu^{3+} 溶液的铕源为六水硝酸铕、六水氯化铕中的一种。

[0018] 可选地,所述步骤1)中 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合后的混合溶液中Ca和Eu的总摩尔浓度为0.07515M,Eu的物质的量与Ca和Eu的总物质的量的比为5%~10%;所述步骤1)中聚丙烯酸溶液中羧基的物质的量与 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合后的混合溶液中Ca和Eu的总物质的量的比为2.0~4.0。

[0019] 可选地,所述步骤1)中PAA-Ca (Eu)络合物前驱体的粒径为2~3nm。

[0020] 可选地,所述步骤2)中配制所述 PO_4^{3-} 溶液的磷源为磷酸氢二铵、十二水磷酸氢二钠中的一种。

[0021] 可选地,所述步骤2)中系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液中 PO_4^{3-} 的物质的量与 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合后的混合溶液中Ca和Eu的总物质的量比 ≤ 0.1 。

[0022] 可选地,所述步骤2)中所述PAA-Ca (Eu)络合物前驱体与所述 PO_4^{3-} 标准溶液的反应时间为6-8h;所述步骤3)中所述PAA-Ca (Eu)络合物前驱体与所述待测溶液的反应时间为6-8h。

[0023] 可选地,所述步骤2)中所述系列标准反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI 和所述步骤3)中所述待测反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI ,均通过下式计算得到:

$$[0024] \quad \Delta I = (I - I_0) / I_0,$$

[0025] 式中,I表示系列标准反应溶液和待测反应溶液的荧光强度, I_0 表示PAA-Ca (Eu)络合物前驱体与 PO_4^{3-} 浓度为0的标准溶液混合后的荧光强度。

[0026] 本发明的第二目的在于提供一种上述磷酸根离子的定量检测方法在生物体或环境中磷酸根定量检测方面的应用。

[0027] 本发明所述的磷酸根离子的定量检测方法的检测原理为:

[0028] PAA-Ca²⁺ (Eu³⁺)络合物与 PO_4^{3-} 反应后,Eu³⁺与 PO_4^{3-} 中的 O^{2-} 形成Eu-O键,基于Eu-O电

荷转移带 (CTB) 荧光机制,在特定激发波长 (200-300nm) 下 Eu^{3+} 可发射特有的荧光,荧光强度增幅率与 Eu-O 键数量即 PO_4^{3-} 浓度呈现正相关。基于 Eu^{3+} 荧光强度增幅率与 PO_4^{3-} 浓度间的线性关系,通过检测荧光强度来定量测定 PO_4^{3-} 浓度。

[0029] 相对于现有技术,本发明所述的磷酸根离子的定量检测方法具有以下优势:

[0030] 本发明基于 Eu-O 电荷转移带 (CTB) 荧光机制,利用磷酸根离子浓度与 Eu^{3+} 荧光强度增幅率间的定量关系,实现对磷酸根离子的定量检测,整个检测过程在水相体系中进行,方法简便易操作,成本低,可用于化学、生物、医学、环境等领域中磷酸根浓度的检测,而且本发明基于 Eu^{3+} 发射带宽窄、光化学稳定性高的特性,使得本发明方法对 PO_4^{3-} 的测定具有较高的灵敏度和稳定性。

附图说明

[0031] 构成本发明的一部分的附图用来提供对本发明的进一步理解,本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明,并不构成对本发明的不当限定。在附图中:

[0032] 图1为本发明实施例1的PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体的粒径分布图;

[0033] 图2为本发明实施例1和实施例2的荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系图;

[0034] 图3为本发明实施例3的荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系图。

具体实施方式

[0035] 需要说明的是,在不冲突的情况下,本发明中的实施例及实施例中的特征可以相互组合。

[0036] 下面将结合实施例来详细说明本发明。

[0037] 实施例1

[0038] 一种磷酸根离子的定量检测方法,具体包括以下步骤:

[0039] 1) 将4.4103g二水氯化钙溶于100ml超纯水中,配制成0.3M的 Ca^{2+} 溶液;

[0040] 2) 将1.4898g六水硝酸铈溶于100ml超纯水中,配制成0.0334M的 Eu^{3+} 溶液;

[0041] 3) 将0.216g聚丙烯酸溶于20ml超纯水中,持续搅拌使其完全溶解,得到聚丙烯酸溶液;

[0042] 4) 按照 $\text{Eu}/(\text{Ca}+\text{Eu})=10\%$ (摩尔比),即Eu的物质的量与Ca和Eu的总物质的量的比为10%,将 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合成Ca和Eu总摩尔浓度为0.07515M的混合溶液(20mL)后,在室温下,按照聚丙烯酸溶液中羧基的物质的量与 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合后的混合溶液中Ca和Eu的总物质的量的比为2.0,加入聚丙烯酸溶液,搅拌使其混合均匀,然后,用氨水调节pH至6.0~8.0,进行络合反应,得到粒径为2~3nm的PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体,粒径分布图如图1所示;

[0043] 5) 将3.5814g十二水磷酸氢二钠溶于100ml超纯水中,配制成0.1M的 PO_4^{3-} 溶液,并将配制的0.1M的 PO_4^{3-} 溶液稀释成系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液(0,0.25mM,0.75mM,1.5mM,2mM,2.5mM,3.75mM,5mM,7.5mM,10mM,12.5mM),然后,取PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体分别与20ml系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液混合,并用氨水分别调节pH至9.0~10.0,充分反应6h后,利用荧光分光光度计测量系列标准反应溶液的荧光强度,计算系列标准反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI ,并建立荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,其中,系列标准反应溶液的

荧光强度增幅率 ΔI , 通过下式计算得到:

$$[0044] \quad \Delta I = (I - I_0) / I_0,$$

[0045] 式中, I 表示系列标准反应溶液的荧光强度, I_0 表示PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体与 PO_4^{3-} 浓度为0的标准溶液混合后的荧光强度;

[0046] 而且通过线性拟合得到荧光强度增幅率 (y) - PO_4^{3-} 浓度 (x) 线性关系曲线如图2所示, $y = 0.601x - 0.098$, $R^2 = 0.99$;

[0047] 6) 根据上述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系曲线, 得到 PO_4^{3-} 离子浓度的线性范围为 $0.25\text{mM} \sim 7.5\text{mM}$, 将该线性范围的 0.25mM 和 7.5mM 带入式 $y = 0.601x - 0.098$, 得到最低浓度所对应的荧光强度增幅率 a_0 为 0.052 , 最高浓度所对应的荧光强度增幅率 b_0 为 4.410 , 由 a_0 和 b_0 得到可靠性荧光强度增幅率的范围 $a \sim b$ 为 $0.71 \sim 3.76$, 其中, $a = a_0 + (b_0 - a_0) \times 15\%$, $b = b_0 - (b_0 - a_0) \times 15\%$;

[0048] 7) 将 0.0287g 十二水磷酸氢二钠溶于 20ml 超纯水中, 配制成 4mM 的 PO_4^{3-} 离子待测溶液, 然后, 将待测溶液与步骤4) 的PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合, 并用氨水调节 pH 至 $9.0 \sim 10.0$, 充分反应 6h 后, 利用荧光分光光度计测量待测反应溶液 (待测溶液与PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体反应结束后的溶液) 的荧光强度, 并计算待测反应溶液的荧光强度增幅率 $\Delta I = 2.355$, 其在可靠性荧光强度增幅率范围 $a \sim b$ ($0.71 \sim 3.76$) 内, 其中, 待测反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI 的计算方法同步骤5);

[0049] 8) 将待测反应溶液的荧光强度增幅率 (2.355) 代入荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系式 ($y = 0.601x - 0.098$), 得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度为 4.08mM , 其与配制的 PO_4^{3-} 离子溶液浓度偏离率为 2% 。

[0050] 实施例2

[0051] 一种磷酸根离子的定量检测方法, 具体包括以下步骤:

[0052] 1) 将 4.4103g 二水氯化钙溶于 100ml 超纯水中, 配制成 0.3M 的 Ca^{2+} 溶液;

[0053] 2) 将 1.4898g 六水硝酸铕溶于 100ml 超纯水中, 配制成 0.0334M 的 Eu^{3+} 溶液;

[0054] 3) 将 0.216g 聚丙烯酸溶于 20ml 超纯水中, 持续搅拌使其完全溶解, 得到聚丙烯酸溶液;

[0055] 4) 按照 $Eu / (Ca + Eu) = 10\%$ (摩尔比), 即 Eu 的物质的量与 Ca 和 Eu 的总物质的量的比为 10% , 将 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合成 Ca 和 Eu 总摩尔浓度为 0.07515M 的混合溶液 (20mL) 后, 在室温下, 按照聚丙烯酸溶液中羧基的物质的量与 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合后的混合溶液中 Ca 和 Eu 的总物质的量的比为 2.0 , 加入聚丙烯酸溶液, 搅拌使其混合均匀, 然后, 用氨水调节 pH 至 $6.0 \sim 8.0$, 进行络合反应, 得到粒径为 $2 \sim 3\text{nm}$ 的PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体;

[0056] 5) 将 3.5814g 十二水磷酸氢二钠溶于 100ml 超纯水中, 配制成 0.1M 的 PO_4^{3-} 溶液, 并将配制的 0.1M 的 PO_4^{3-} 溶液稀释成系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液 ($0, 0.25\text{mM}, 0.75\text{mM}, 1.5\text{mM}, 2\text{mM}, 2.5\text{mM}, 3.75\text{mM}, 5\text{mM}, 7.5\text{mM}, 10\text{mM}, 12.5\text{mM}$), 然后, 取PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体分别与 20ml 系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液混合, 并用氨水分别调节 pH 至 $9.0 \sim 10.0$, 充分反应 6h 后, 利用荧光分光光度计测量系列标准反应溶液的荧光强度, 计算系列标准反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI , 并建立荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系, 其中, 系列标准反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI , 通过下式计算得到:

$$[0057] \quad \Delta I = (I - I_0) / I_0,$$

[0058] 式中, I 表示系列标准反应溶液的荧光强度, I_0 表示PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体与 PO_4^{3-} 浓度为0的标准溶液混合后的荧光强度;

[0059] 而且通过线性拟合得到荧光强度增幅率 (y) - PO_4^{3-} 浓度 (x) 线性关系曲线如图2所示, $y=0.601x-0.098, R^2=0.99$;

[0060] 6) 根据上述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系曲线, 得到 PO_4^{3-} 离子浓度的线性范围为 $0.25\text{mM} \sim 7.5\text{mM}$, 将该线性范围的 0.25mM 和 7.5mM 带入式 $y=0.601x-0.098$, 得到最低浓度所对应的荧光强度增幅率 a_0 为 0.052 , 最高浓度所对应的荧光强度增幅率 b_0 为 4.410 , 由 a_0 和 b_0 得到可靠性荧光强度增幅率的范围 $a \sim b$ 为 $0.71 \sim 3.76$, 其中, $a = a_0 + (b_0 - a_0) \times 15\%$, $b = b_0 - (b_0 - a_0) \times 15\%$;

[0061] 7) 将 0.2865g 十二水磷酸氢二钠溶于 40ml 超纯水中, 配制成 20mM 的 PO_4^{3-} 离子待测溶液, 然后, 取 20ml 上述待测溶液与步骤4) 的PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合, 并用氨水调节 pH 至 $9.0 \sim 10.0$, 充分反应 8h 后, 利用荧光分光光度计测量待测反应溶液的荧光强度, 并计算待测反应溶液的荧光强度增幅率 $\Delta I = 5.089$, 其不在可靠性荧光强度增幅率范围 $a \sim b$ ($0.71 \sim 3.76$) 内, 且高于可靠性荧光强度增幅率范围, 其中, 待测反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI 的计算方法同步骤5);

[0062] 8) 取 10ml 上述待测溶液, 并将其稀释成 20ml , 然后, 将稀释后的待测溶液与步骤4) 的PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体混合, 并用氨水调节 pH 至 $9.0 \sim 10.0$, 充分反应 8h 后, 利用荧光分光光度计测量稀释后得到的待测反应溶液 (稀释后的待测溶液与PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体反应结束后的溶液) 的荧光强度, 并计算稀释后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率 $\Delta I = 4.905$, 其仍不在可靠性荧光强度增幅率范围 $a \sim b$ ($0.71 \sim 3.76$) 内, 且高于可靠性荧光强度增幅率范围; 取 4ml 上述待测溶液, 并将其稀释成 20ml , 重复上述测试过程, 计算稀释后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率 $\Delta I = 2.323$, 其在可靠性荧光强度增幅率范围 $a \sim b$ ($0.71 \sim 3.76$) 内, 其中, 稀释后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI 的计算方法同步骤5);

[0063] 9) 将稀释后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率 (2.323) 代入荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系式 ($y=0.601x-0.098$), 可知稀释后得到的待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度为 4.03mM , 将释后得到的待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度乘以稀释倍数, 得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度为 20.15mM , 即 $4.03 \times 5 = 20.15\text{mM}$, 其与配制的 PO_4^{3-} 离子溶液浓度偏离率为 7.5% 。

[0064] 实施例3

[0065] 一种磷酸根离子的定量检测方法, 具体包括以下步骤:

[0066] 1) 将 4.4103g 二水氯化钙溶于 100ml 超纯水中, 配制成 0.3M 的 Ca^{2+} 溶液;

[0067] 2) 将 1.4898g 六水硝酸铕溶于 100ml 超纯水中, 配制成 0.0334M 的 Eu^{3+} 溶液;

[0068] 3) 将 0.432g 聚丙烯酸溶于 20ml 超纯水中, 持续搅拌使其完全溶解, 得到聚丙烯酸溶液;

[0069] 4) 按照 $\text{Eu}/(\text{Ca}+\text{Eu}) = 5\%$ (摩尔比), 即 Eu 的物质的量与 Ca 和 Eu 的总物质的量的比为 5% , 将 Ca^{2+} 溶液和 Eu^{3+} 溶液混合成 Ca 和 Eu 总摩尔浓度为 0.07515M 的混合溶液 (20mL) 后, 在室温下, 加入聚丙烯酸溶液, 搅拌使其混合均匀, 然后, 用氨水调节 pH 至 $6.0 \sim 8.0$, 进行络合反应, 得到粒径为 $2 \sim 3\text{nm}$ 的PAA-Ca (Eu) 络合物前驱体;

[0070] 5) 将 3.5814g 十二水磷酸氢二钠溶于 100ml 超纯水中, 配制成 0.1M 的 PO_4^{3-} 溶液, 并

将配制的0.1M的 PO_4^{3-} 溶液稀释成系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液(0,0.25mM,0.75mM,1.5mM,2mM,2.5mM,3.75mM,5mM,7.5mM,10mM,12.5mM),然后,取PAA-Ca(Eu)络合物前驱体分别与20ml系列特定浓度的 PO_4^{3-} 标准溶液混合,并用氨水分别调节pH至9.0~10.0,充分反应6h后,利用荧光分光光度计测量系列标准反应溶液的荧光强度,计算系列标准反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI ,并建立荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系,其中,系列标准反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI ,通过下式计算得到:

$$[0071] \quad \Delta I = (I - I_0) / I_0,$$

[0072] 式中,I表示系列标准反应溶液的荧光强度, I_0 表示PAA-Ca(Eu)络合物前驱体与 PO_4^{3-} 浓度为0的标准溶液混合后的荧光强度;

[0073] 而且通过线性拟合得到荧光强度增幅率(y)- PO_4^{3-} 浓度(x)线性关系曲线如图3所示, $y = 0.897x - 0.27, R^2 = 0.99$;

[0074] 6)根据上述荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系曲线,得到 PO_4^{3-} 离子浓度的线性范围为0.25mM~3.75mM,将该线性范围的0.25mM和3.75mM带入式 $y = 0.897x - 0.27$,得到最低浓度所对应的荧光强度增幅率 a_0 为-0.046,最高浓度所对应的荧光强度增幅率 b_0 为3.094,由 a_0 和 b_0 得到可靠性荧光强度增幅率的范围 $a \sim b$ 为0.43~2.62,其中, $a = a_0 + (b_0 - a_0) \times 15\%$, $b = b_0 - (b_0 - a_0) \times 15\%$;

[0075] 7)将0.0029g十二水磷酸氢二钠溶于40ml超纯水中,配制成0.2mM的 PO_4^{3-} 离子待测溶液,然后,取20ml上述待测溶液与步骤4)的PAA-Ca(Eu)络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应6h后,利用荧光分光光度计测量待测反应溶液的荧光强度,并计算待测反应溶液的荧光强度增幅率 $\Delta I = 0.020$,其未落入可靠性荧光强度增幅率范围 $a \sim b$ (0.43~2.62)内,且低于可靠性荧光强度增幅率范围 $a \sim b$,其中,待测反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI 的计算方法同步骤5);

[0076] 8)取20ml上述待测溶液,并加入0.0145g十二水磷酸氢二钠,然后,将浓度增加后的待测溶液与步骤4)的PAA-Ca(Eu)络合物前驱体混合,并用氨水调节pH至9.0~10.0,充分反应6h后,利用荧光分光光度计测量浓度增加后得到的待测反应溶液(浓度增加后的待测溶液与PAA-Ca(Eu)络合物前驱体反应结束后的溶液)的荧光强度,并计算浓度增加后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率 $\Delta I = 1.741$,其在可靠性荧光强度增幅率范围 $a \sim b$ (0.43~2.62)内,其中,浓度增加后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率 ΔI 的计算方法同步骤5);

[0077] 9)将浓度增加后得到的待测反应溶液的荧光强度增幅率(1.741)代入荧光强度增幅率- PO_4^{3-} 浓度线性关系式($y = 0.897x - 0.27$),可知浓度增加后得到的待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度为2.242mM,将浓度增加后得到的待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度减去加入的 PO_4^{3-} 的量,其中,加入的0.0145g十二水磷酸氢二钠增加的 PO_4^{3-} 浓度为2.024mM,得到待测溶液中 PO_4^{3-} 浓度为0.218mM,即 $2.242\text{mM} - 2.024\text{mM} = 0.218\text{mM}$,其与配制的 PO_4^{3-} 离子溶液浓度偏离率为7.9%。

[0078] 以上仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

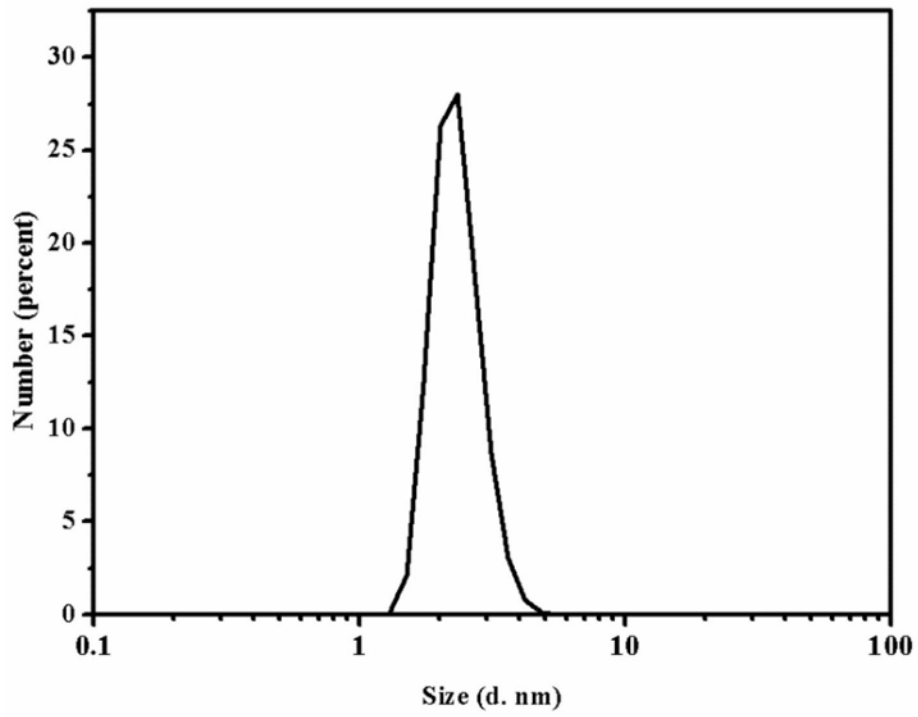


图1

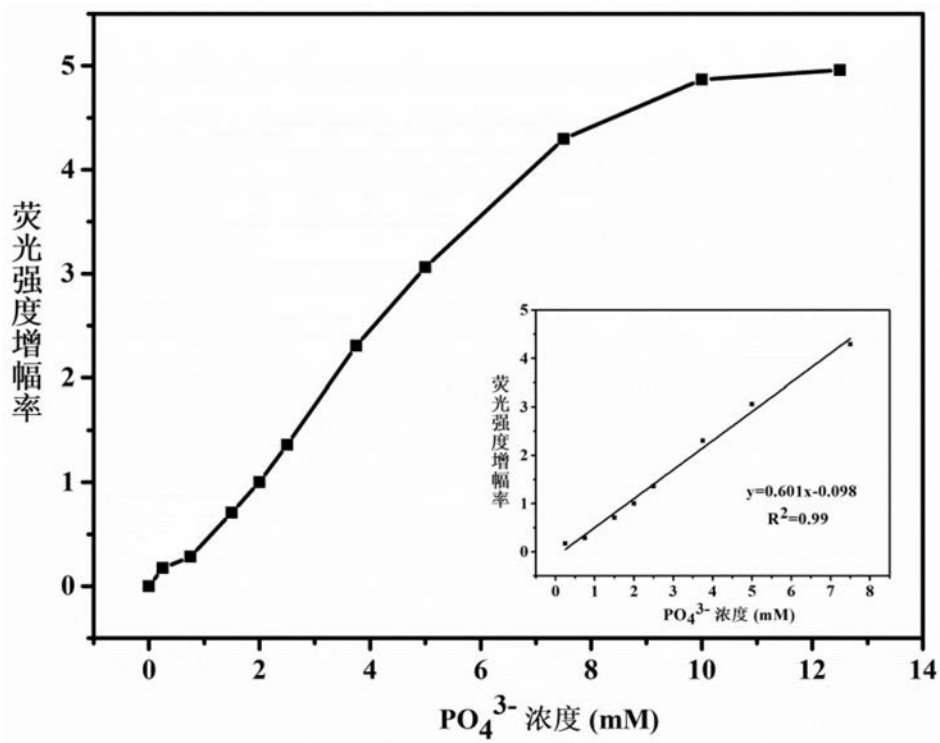


图2

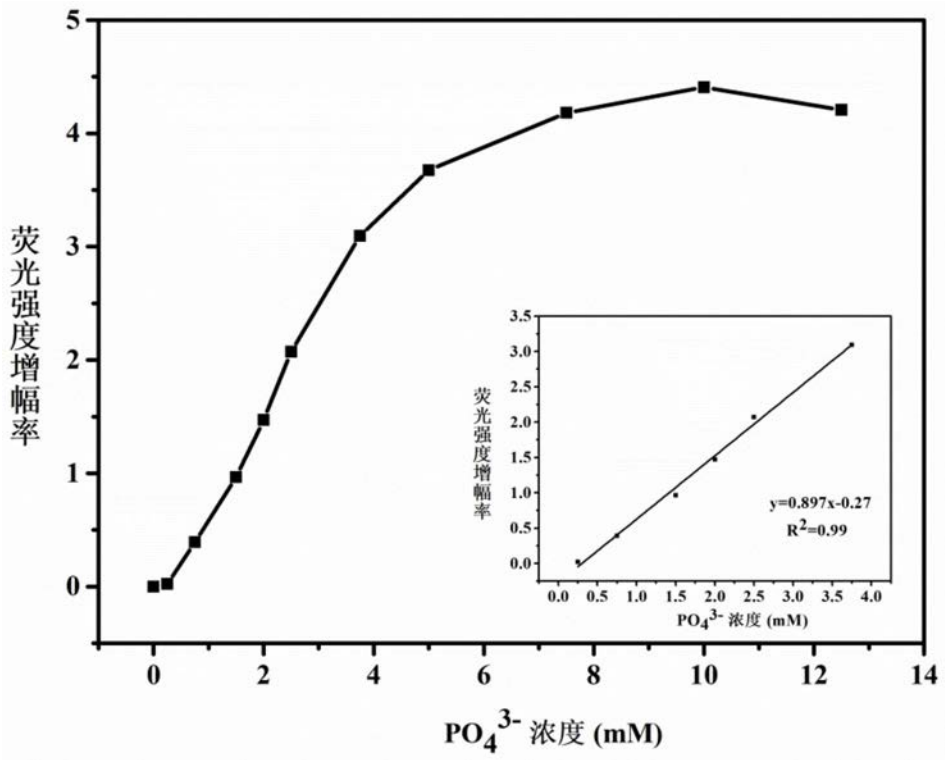


图3