

血清中微量钙的极谱测定

岑传铨 庄秀润

(应用化学系)

摘要 在0.02mol/L KOH介质中, 钙-桑色素络合物在单扫描示波极谱仪上有一灵敏的极谱吸附波, 其导数峰电位为 -0.75V (vs. SCE), 峰电流与钙浓度在 $2.5 \times 10^{-8} - 2.0 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 范围内呈线性关系。其检测限为 $0.1\mu\text{g Ca}^{2+}/\text{ml}$, 应用于人体血清中微量钙的测定结果良好, 探讨了波的性质, 测出其络合比为 1:1。

关键词 血清、钙、示波极谱法、桑色素

0 前言

钙的还原电势很负, 极谱法大多用季铵盐的硷性溶液或非水溶液^[1,2,7], 有关钙的络合物吸附波的极谱研究报道尚少^[3-5], 桑色素 (morin, 即3, 5, 7, 2', 4'-五羟基黄酮) 在分析化学中用作Al, Ga, Mo, Sn, Sb, Ta, RE等某些金属离子光度测定的显色剂曾有报导^[6,7], 但用作络合剂极谱测定钙尚未见报导。我们通过试验发现在0.02mol/L KOH介质中, 桑色素在 -0.30V 及 -0.50V (vs. SCE) 处各有一个极谱导数峰, 加入一定量的 Ca^{2+} 后 -0.30V 处峰保持不变, -0.50V 处峰消失, 而在 -0.75V 处展示出一个新的导数峰。本文选择适当的底液条件确定测定钙的浓度范围, 并研究了产生钙波的条件, 应用该波测定人体血清中微量钙, 结果良好, 方法快速、简便。用循环伏安法和极谱等方法研究了该波的性质。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 (1) SJP-1型示波极谱仪, 三电极体系(滴汞电极为阴极, 饱和甘汞电极为参比电极, 铂电极为辅助电极); (2) 82-1型新示波伏安仪; (3) 883极谱仪; (4) pH S-2型酸度计; (5) LZ3-104 X-Y函数记录仪; (6) 氢氧化钾 (G.R.): 0.05mol/L 水溶液; (7) 桑色素 (A.R.): $1.32 \times 10^{-3}\text{mol/L}$, 50%乙醇溶液; (8) 混合酸: 由浓硝酸 (A.R.) 2份和浓硫酸 (A.R.) 9份混合而成; (9) 钙标准溶液: 用 CaCO_3 基准试剂配制成 $1.0\text{mg Ca}^{2+}/\text{ml}$, 临用时按需要稀释。

1.2 实验方法 吸取一定量钙的标准溶液于25ml容量瓶中, 加入 $1.32 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 桑色素

本文1989-10-18收到。

乙醇溶液2.0ml, 0.05mol/L KOH 10.0ml, 用水稀释至刻度, 摇匀, 在示波极谱仪上起始电位为 -0.50V , 记录导数极谱波高。

2 结果与讨论

在0.02mol/L KOH溶液中, 桑色素在 -0.30V 及 -0.50V 处各有一个还原波 P_1 和 P_2 , 加入一定量 Ca^{2+} 后, -0.30V 处的波不变, -0.50V 处的波消失, 而在 -0.75V 处出现一新的导数峰 P_3 , 峰形尖锐, 见图1。

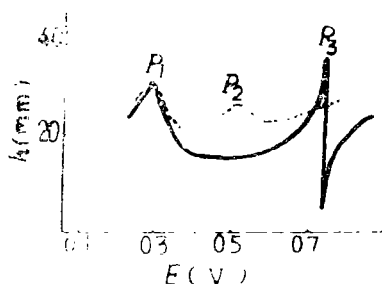


图1 示波极谱图

——为桑色素+KOH介质;
——为 Ca^{2+} +桑色素+KOH介质

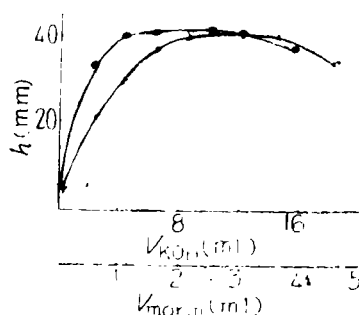


图2 KOH和桑色素用量对峰高的影响

× ——KOH用量;
• ——桑色素乙醇液用量

2.1 底液条件的选择

(1) 氢氧化钾浓度的影响: 取 $10\mu\text{g Ca}^{2+}$ 按实验方法加入不同量的0.05mol/L KOH溶液, 实验表明, KOH用量在8.0—14.0ml间峰高最大且恒定不变(图2), 本实验选用10.0ml (0.02mol/L) KOH为底液。

(2) 桑色素乙醇溶液的用量: 取 $10\mu\text{g Ca}^{2+}$ 按实验方法加入不同量的 $1.32 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 桑色素50%乙醇溶液, 结果表明, 随桑色素用量增加, -0.75V 处的峰高也增加, 当用量为1.0—2.5ml时峰高稳定, 大于2.5ml则峰高略有降低(图2)。本实验选用 $1.32 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 桑色素50%乙醇溶液2.0ml。

综上所述, 选用底液条件为: 0.02mol/L KOH— $1.06 \times 10^{-4}\text{mol/L}$ 桑色素4%乙醇溶液。

2.2 络合物的稳定性

温度保持在15—30℃之间, 用选定的条件按实验方法在不同时间内测定峰高, 结果表明在1h内峰高稳定不变。

2.3 线性范围

在上述确定的条件下, 按实验方法钙浓度在 2.6×10^{-6} — $2.0 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 范围内峰高与浓度呈线性关系, 钙的检测下限为 $0.1\mu\text{g/ml}$ 。

2.4 共存离子的影响

在上述测定条件下, 对 $10\mu\text{g Ca}^{2+}$ 的最高允许共存量为 Na^+ 900 μg , Bi^{3+} 500 μg , Mo^{4+} 500 μg

$\text{Mg}^{2+} 50\mu\text{g}$, $\text{Al}^{3+} 10\mu\text{g}$, $\text{Ba}^{2+} 10\mu\text{g}$, $\text{Pb}^{2+} 10\mu\text{g}$, $\text{Fe}^{3+} 10\mu\text{g}$, $\text{Cu}^{2+} 2.0\mu\text{g}$, $\text{Zn}^{2+} 2.5\mu\text{g}$, $\text{Co}^{2+} 2.0\mu\text{g}$, $\text{Mn}^{2+} 2.5\mu\text{g}$, $\text{Cr}^{3+} 2.0\mu\text{g}$, $\text{SO}_4^{2-} 1500\mu\text{g}$, $\text{NO}_3^- 100\mu\text{g}$, $\text{Cl}^- 1500\mu\text{g}$.

2.5 钙-桑色素极谱波性质的探讨

(1) 电毛细管曲线: 如图3所示. 由图可见在KOH介质中加入桑色素及 Ca^{2+} -桑色素溶液均使滴汞的表面张力降低, 使滴下时间缩短, 这表明 Ca^{2+} -桑色素络合物显示吸附特性.

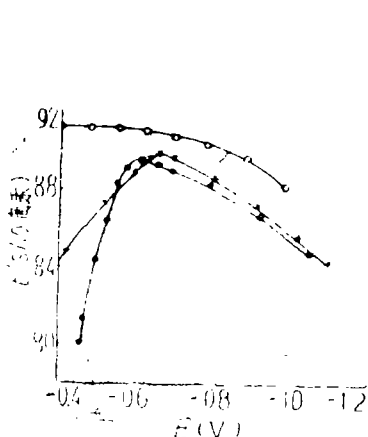


图3 电毛细管曲线

- 0.02mol/L KOH溶液;
- 0.02mol/L KOH + 1.06×10^{-5} mol/L 桑色素 4% 乙醇溶液;
- ×—— 2×10^{-5} mol/L Ca^{2+} + 0.02mol/L KOH + 1.06×10^{-5} mol/L 桑色素 4% 乙醇溶液.

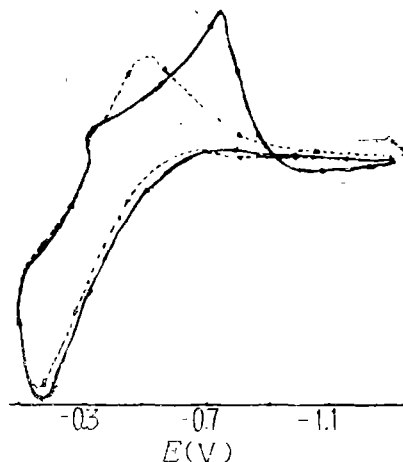


图4 循环伏安图

- 为0.02mol/L KOH + 1.06×10^{-5} mol/L 桑色素 4% 乙醇溶液;
- 为 2×10^{-5} mol/L Ca^{2+} + 0.02mol/L KOH + 1.06×10^{-5} mol/L 桑色素 4% 乙醇溶液.

(2) 起始电位对峰高的影响: 起始电位越正, 峰高越高, 这可能是由于起始电位越正, 络合物在电极上富集的量也越多所致.

(3) 汞柱高度对峰高的影响: 实验证明, 汞柱高度从35—75cm间的变化对峰高无影响, 即 $i = K h^{\alpha}$. 这表明该极谱波可能具有动力性质.

(4) 温度及表面活性物质对峰高的影响: Ca^{2+} -桑色素在6—15℃温度系数 α 为 +2.6%/℃, 大于一般扩散电流的 α , 表明该波具有动力波性质. 在15—30℃峰高不受温度的影响, 在30—37℃ α 为 -1.9%/℃, α 出现负值. 另外在室温下分别加入0.0001%的十二烷基磺酸钠和十六烷基三甲基溴化铵, 使峰高分别降低23%和65%, 这说明该极谱波也具有吸附的特性.

(5) 循环伏安图: 在82-1型新示波伏安仪上三电极体系(滴汞、饱和甘汞、铂丝电极), 扫描速度为350mV/s, 结果如图4. 由图可见 Ca^{2+} -桑色素在-0.75V左右出现一新的阴极波, 它对应于单扫描极谱上-0.75V处 Ca^{2+} -桑色素的极谱波, 而桑色素与 Ca^{2+} -桑色素络合物的阳极支均没有出现氧化峰, 可以认为该电极反应均为不可逆. 又由于钙是电不活泼元素, 故该吸附波是络合物吸附在电极表面上, 由络合物中的配位体桑色素在电极上还原.

(6) 瞬时电流-时间曲线: $i-t$ 曲线是在一个汞滴上瞬时电流随时间变化的曲线, 图5为在 E_p 处的 $i-t$ 曲线及其对数分析。对 $i-t$ 曲线进行对数分析 $\beta = d \ln i / d \ln t \approx 1.15$, $\beta > 1$ 说明在常温下该极谱波受动力控制, 并伴随有吸附现象。

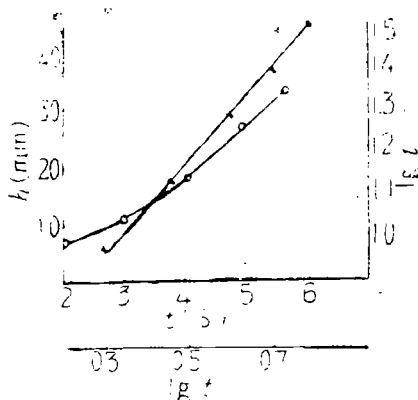


图5 瞬时电流-时间关系曲线
o —— $i-t$ 曲线; x —— $\lg i - \lg t$ 曲线

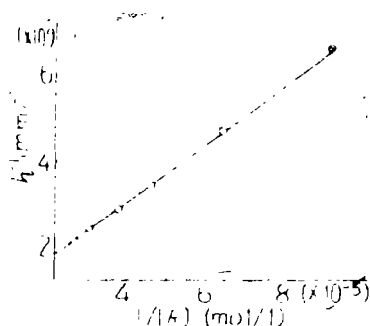


图6 i^{-1} 与 $[Morin]^{-1}$ 的关系

综上所述, 可以认为该 Ca^{2+} -桑色素络合物的吸附波具有动力波的性质, 极谱电流产生于络合物中桑色素的还原。

2.6 电话性络合物的组成及其表观稳定常数

分别吸取 $1.32 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 桑色素乙醇溶液 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0 ml 于 25 ml 容量瓶中, 加入 $10 \mu\text{g } Ca^{2+}$, 10 ml 0.05 mol/L 的 KOH 溶液, 按上述试验方法测其导数峰高, 据文献[8]提出的处理方法绘制 $(1/i) - (1/[R]^n)$ 曲线 ($n = 1, 2, \dots$), 能获得直线的 n 值即为络合物的组成比, 同时根据直线的斜率和截距计算稳定常数。

从实验知, 只有当 $n = 1$ 时才获得直线 (见图6)。因此确定了在本实验条件下该电极活性络合物的组成比为 1:1, 并由直线的斜率和截距计算得到的表观稳定常数 $\beta_1 = 1.3 \times 10^4$, 这数值与文献[9]用离子选择性电极 ($\text{pH} = 9.0$) 测得的 Ca^{2+} -桑色素的 $\beta_1 = 1.0 \times 10^4$ 相符。

3 样品分析

取 1.0 ml 血清于小烧杯中, 分数批加入混合酸共 10 ml, 小火加热消化, 待溶液出现淡绿色后, 继续加热煮干直至白烟消失, 冷却后移至 50 ml 容量瓶中用二次蒸馏水定容, 摇匀。移取消化后的试液 2 ml 于 25 ml 容量瓶中, 按前述实验方法进行测定, 并以标准加入法计算血清中钙的含量, 其结果与回收率见下表 1。

表 1 血清钙测定结果

项 目	样 品 编 号	
	1 #	2 #
本法测定结果(mg/dl)	9.94、9.31、9.53、10.1、10.2	11.2、11.7、10.9、11.9、11.7
平均值(mg/dl)	9.82	11.5
标准偏差(mg/dl)	0.33	0.59
变动系数(%)	3.96	5.13
回 加 入 量(mg/dl)	2.00	2.00
收 测 得 量(mg/dl)	11.9	13.6
率 回 收 率(%)	104	105

参 考 文 献

- [1] Louis Meites, *Handbook of Anal. Chem.*, (1963), 5—100.
- [2] Зебрева, А. И., Ж. А. X., 36, (1981), 180.
- [3] 郭渡、汪尔康, 紫尿酸铵-钙络合物的极谱研究, 分析化学, 10, 5 (1982), 277.
- [4] 安镜如、周金魁, 电分析化学学术会议论文集(上), (1984), 312.
- [5] 吴维昌, 电分析化学学术会议论文集(上), (1987), C—35.
- [6] 潘教麦、陈亚森、严恒太, 显色剂及其在冶金分析中的应用, 上海科学技术出版社, (1981), 404—415.
- [7] 杭州大学化学系分析化学教研室编, 分析化学手册第三分册(电化学分析与光学分析), 化学工业出版社, (1983), 224—225, 450.
- [8] 高小霞、姚修仁, 铂族元素的极谱催化波, 科学出版社, (1977), 122—127.
- [9] 马桂兰等, 离子选择性电极法研究桑色素与钙(II)和镉(II)的络合物, 离子选择电极通讯, 2 (1984), 78.

Polarographic Determination of Serum Calcium

Cen Chuanquan Zhuang Xijun

(*Department of Applied Chemistry*)

Abstract In the solution of 0.02mol/L KOH, calcium-morin complex has a sensitive polarographic wave, as shown by the single sweep polarography. The peak potential of its derivative appears at -0.75V (vs. SCE). A linear relationship between peak current and calcium concentration holds in the range of 2.5×10^{-6} — $2.0 \times 10^{-5}\text{mol/L}$. The detection limit for calcium is $0.1\mu\text{g/ml}$. This method has been successively applied to the determination of calcium in human serum. The properties of this wave has been studied. The complexing ratio of the complex has been determined to be 1 : 1.

Key words serum, Calcium, oscillographic polarography, morin