

血清中微量镉的离心光度法测定研究*

张 旭^① 方文焕^②

(^① 华侨大学医院, 泉州 362011; ^② 华侨大学应用化学系, 泉州 362011)

摘要 研究一种超高灵敏直接测定血清中微克级镉的新分析方法——离心光度法。在 Cd-Br-RB 体系中缔合物表观摩尔吸光系数 $\epsilon_{560} = 5.06 \times 10^8 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, Cd^{2+} 的浓度在 $1.0 \times 10^{-9} \sim 10.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围服从 Beer 定律。本法用于分析测定人体血清样品中 Cd^{2+} , 得其含量为 $1.87 \times 10^{-11} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 变异系数为 4.2% ($n=5$)。

关键词 离心分离处理, 分光光度法, 血清, 镉(Ⅱ), 溴化物, 罗丹明 B

分类号 O 657.32

自日本国查明富山县镉致“骨痛病”以来, 人们对镉患引起极大关注。据调查^[1], 人体体内镉含量是随着年龄的增加而增加, 从新生儿体内不含镉至 50 岁时每千克体重含镉量可达 20~30 ng。镉可经呼吸道和消化道入体^[2]引起镉害, 为此我国制定了工业“三废”排放标准和粮食(包括食品), 饮用水等卫生标准, 规定每千克大米的镉量不得超过 0.02~0.05 mg, 生活饮用水不得超过 $8.90 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[3], 等等。因为镉进入人体后分布遍及全身各器官, 主要贮存于肝和肾, 很不容易排出而中毒。这种慢性中毒可造成小细胞低血色素性贫血, 心血管疾病, 骨质软化等等。因此, 人体血清中镉的测定, 在医学上具有重要的临床意义。对镉的测定常用的有双硫脲比色法^[4~7]和原子吸收法^[1,4], 它们的灵敏度都不够高, 因而不能直接测定血清中微克级的镉。本文采用离心分离技术和光度测定技术联用的方法。它是利用 Cd^{2+} 先与 Br^- 形成二元络阴离子 $[\text{CdBr}_2]^-$, 然后再与碱性染料罗丹明 B $[\text{RB}^+]$ 发生缔合反应, 生成复杂缔合物 $[\text{CdBr}_2]^- \cdot [\text{RB}^+]_2 \cdot n[\text{RB} \cdot \text{Br}]^{[8]}$, 此复杂缔合物具有很强的疏水性, 利用高速离心分离可从水相中分离出来, 再用溶剂溶解后进行光度测定。它具有灵敏^[9]、快速、操作简便等优点。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂 镉标准溶液: 称取 $\text{CdO}(\text{AR}) 0.1142 \text{ g}$, 溶于 10 mL $2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HNO_3 后, 移入 100 mL 容量瓶, 以蒸馏水稀释至刻度, 混匀并贮于聚乙烯瓶中, 即配成 $8.9 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的镉标准贮备液; $3.00 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溴化钾(KBr)水溶液(常温陈化半年); $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot$

* 本文 1994-06-05 收到

L^{-1} 罗丹明 B(RB)水溶液,过滤备用。

1.1.2 仪器 721 型分光光度计(上海第三分析仪器厂);PHS-2C 型酸度计(上海雷磁仪器厂);800 型离心沉淀器(上海手术器械厂)。

1.2 实验方法

取 $1.0 \times 10^{-3} \sim 1.0 \times 10^{-2} \mu g$ Cd^{2+} 于 10 mL 离心管中,加入 1.5 mL $3.00 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ KBr 和 3.0 mL $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ RB,加蒸馏水至 10 mL,倒入小烧杯中,调节酸度至 pH1.70 倒回原离心管,在室温下放置 70 min,并以 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速离心 10 min. 取出离心管,将上层清液用玻璃毛细管真空抽吸除去。粘附在管壁上的缔合物沉淀用 10.0 mL 无水乙醇溶解。同样条件,制备试剂空白为参比,于 560 nm 处用 0.5 cm 比色皿测其吸光度。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱

分别绘制 Cd-Br-RB 缔合物、试剂空白和 RB 的吸收光谱(图 1)。图中四条曲线的形状完全一致,其最大吸收波长均为 560 nm. 因此,本法选用 560 nm 为光度测定的波长。

2.2 测定工作条件的选择

2.2.1 酸度的选择 Cd-Br-RB 缔合物沉淀的最佳酸度范围 pH 值为 1.60~1.80,实验结果见图 2 所示,在此范围内,缔合物的缔合反应和离心沉淀完全且稳定,能获得最大而稳定的吸光度,其对应试剂空白值也最低,故选用显色酸度为 pH 1.70。

2.2.2 溴化钾和罗丹明 B 用量的选择

在 1.40~1.60 mL 浓度 $3.00 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 的 KBr 用量范围内,缔合物的吸光度有一平台(图 3),故选用 KBr 用量为 1.50 mL. RB($1.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot L^{-1}$)的用量在 2.80~3.20 mL 范围内,缔合物的吸光度最大且恒定(图 4),故选用 3.0 mL RB. 因为 RB 和 KBr 也形成二元缔合物

$[RB \cdot Br]$ 沉淀,随着 RB 和 KBr 用量的增大,试剂空白值也会增加。所以,在保证三元缔合物沉淀完全且达到最大量的指带 $n[RB \cdot Br]$ 的前提下,应适当地控制 KBr 和 RB 的用量,使试剂空白值尽可能低,以利于获得高的灵敏度。

2.2.3 显色时间与缔合物稳定性的实验 Cd-Br-RB 体系在选定的最佳条件下显色后,其缔合物的吸光度随显色反应时间的增长而增大。在 60~120 min 显色时间内其吸光度最大且恒

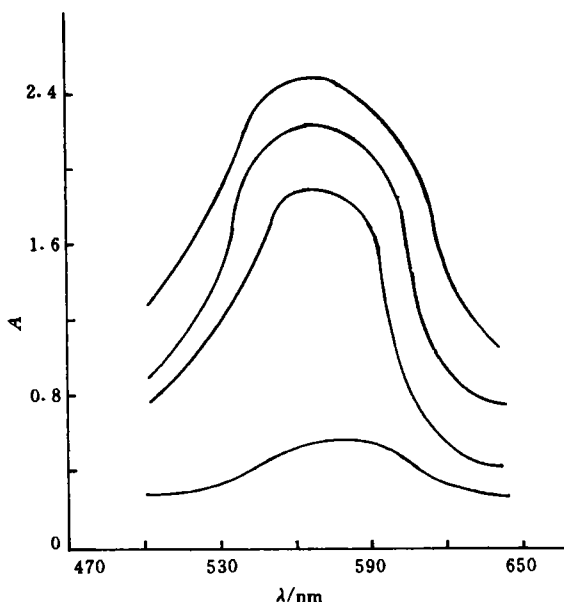


图 1 吸收光谱

1. 试剂空白/乙醇; 2. 试液/乙醇;
3. 试液/试剂空白; 4. RB/乙醇

定(图5),它说明在这期间内缔合物完全缔合,这是由于复杂缔合物是由众多化学粒子组成,其缔合作用需要足够充分的时间才达到稳定平恒的缘故.故选定显色静置70 min后才离心分离与测定.实验还表明,复杂缔合物 $[\text{CdBr}_4] \cdot [\text{RB}]_2 \cdot n[\text{RB} \cdot \text{Br}]$ 能溶于无水乙醇中且颜

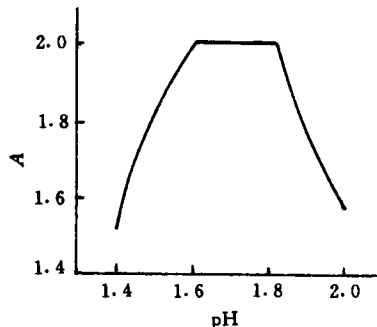


图2 酸度的影响试液/试剂空白

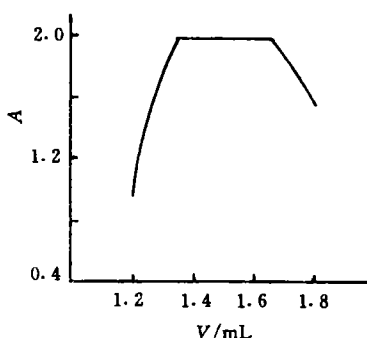


图3 KBr 用量的影响

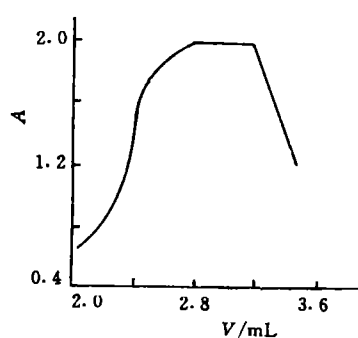


图4 RB 用量的影响

色稳定,可直接用来进行光度测定.若加塞避免乙醇挥发,则可在较长时间内反复测定,其吸光度不变.

2.2.4 工作曲线及灵敏度测定 Cd-Br-RB 体系含镉量在 $1.0 \times 10^{-9} \sim 10.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 符合 Beer 比尔定律,表观摩尔吸光系数 $\epsilon_{560} = 5.06 \times 10^8 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (图6).

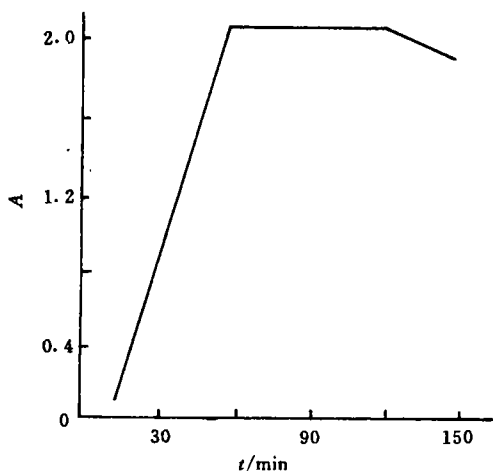


图5 放置时间的影响

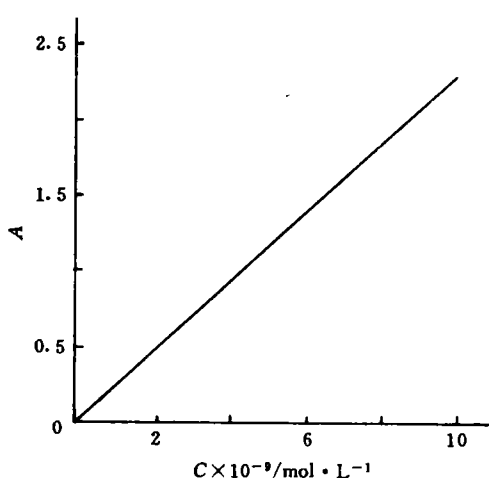


图6 标准工作曲线

2.2.5 共存离子的影响 在 Cd^{2+} 测定(允许误差 $\leq 5\%$)时,取 1.0 L 溶液(含 $\text{Cd}^{2+} 1.00 \mu\text{g}$),加入 $1.00 \times 10^5 \mu\text{g}$ 的 NO_3^- ; $5.00 \times 10^4 \mu\text{g}$ 的 Cl^- ; $1.00 \times 10^4 \mu\text{g}$ 的 Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} ; $8.00 \times 10^3 \mu\text{g}$ 的 Fe^{3+} ; $2.00 \times 10^3 \mu\text{g}$ 的 Pb^{2+} ; $1.00 \times 10^3 \mu\text{g}$ 的 Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , SO_4^{2-} , SiO_3^{2-} ; $4.00 \times 10^2 \mu\text{g}$ 的 Pd^{2+} ; $10 \mu\text{g}$ 的 Ag^+ , Au^{3+} , Bi^{3+} , Sb^{3+} 均不干扰测定.

3 样品分析

取 2.00 mL 华大井水 6 份,按实验方法进行离心光度法测定,得其平均值为 $3.69 \times 10^{12} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,其变异系数 CV 为 2.48%,经浮选-原子吸收法测定该样品中含镉量为 4.09×10^{12}

$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 另取 0.50 mL 血清 5 份, 加 2.00 mL 浓硝酸加热消化, 蒸至近干, 冷却后, 用 1.00 mL $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HNO_3 溶解并移入 10 mL 离心管中, 按试验方法测定其平均值为 $18.7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 变异系数为 4.20%.

参 考 文 献

- 1 翟永信. 现代食品分析手册. 北京: 北京大学出版社, 1988. 470~476
- 2 上海第一医学院. 实用内科学. 北京: 人民卫生出版社, 1973. 373~374
- 3 成都工学院分析化学教研室. 水质污染分析. 北京: 水利电力出版社, 1978. 191~194
- 4 北京市环境保护科学研究所. 水质物理化学分析基本知识. 北京: 中国建筑工业出版社, 1974. 214~216
- 5 日本分析化学会北海道分会编. 水的分析. 孙铁珩译. 北京: 中国建筑工业出版社, 1979. 266~268
- 6 马钦科著. 元素的分离和分光光度测定. 郑用熙译. 太原: 山西高校联合出版社, 1992. 151~158
- 7 霍耳兹贝赫著. 无机分析中的有机试剂手册. 中山大学化学系译. 北京: 高等教育出版社, 1983. 243~246
- 8 吴绍祖, 方文焕. 溴金酸-罗丹明 B 和氯金酸-罗丹明 6G 超高灵敏显色反应的研究—离心光度法测定金. 分析化学, 1993, 21(2): 148~153
- 9 方文焕, 吴绍祖. 镉超高灵敏显色反应的研究. 华侨大学学报(自然科学版), 1993, 14(1): 47~51

Determinatin of Trace Cadmium in Serum by Centrifugation and Photometry

Zhang Xu^① Fang Wenhan^②

(^①Hospital, Huaqiao Univ., 362011. Quanzhou; ^②Dept. of Appl. Chem., Huaqiao Univ., 362011, Quanzhou)

Abstract For determining serum cadmium of ppb level, a highly sensitive method of centrifugation and photometry is applied. In the cadmium-bromide-rhodamine B system, the associate shows a molar absorption coefficient of $5.06 \times 10^8 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ at 560 nm. Beer's law is obeyed by cadmium in the concentration range of $1.0 \times 10^{-9} \sim 1.0 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The interference of coexisting ions is inspected. The method is successfully applied to the determination of serum cadmium in a content of $1.87 \times 10^{-11} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, with a variation coefficient of 4.2%.

Keywords centrifugation treatment, photometry, serum, cadmium ions, bromides, rhodamine B