

## · 药物分析鉴定 ·

## 血浆中微量汞的消化及冷蒸气原子吸收法测定

沈红梅 孔庆洪

汞进入血液或组织后,迅速与蛋白结合形成蛋白汞,基本上已失去了其原有金属离子的特性,无法直接用化学反应进行鉴定,必须破坏有机质后,使蛋白汞变成汞离子才可进行直接测定。

鉴于汞在破坏过程中易挥发而损失的特点,国内外科学工作者曾对汞检体有机质破坏方法做了许多工作;但多数方法仅适用于食品中微量汞的测定<sup>(1)(2)</sup>,或尿汞的测定<sup>(3)</sup>,或机体某些组织的汞测定<sup>(4)</sup>。F.R. Barret也曾报道血中汞的测定,但须用大量血液消化后才可进行<sup>(5)</sup>;若在密闭容器内消化后进行体液内微量汞测定,则须特殊设备<sup>(6)</sup>。血浆中微量汞测定尚未见报道,我们在文献<sup>(7)(8)</sup>基础上,进行研究改进,应用实验室常用仪器,对血浆中有机质破坏与其中微量汞的测定方法作了研究。发现用 $H_2SO_4-HNO_3-KMnO_4$ 消化方法既简便又省时,经F-732汞测定仪测定,得到了满意的回收率和结果。具体方法如下:

## 实验部分

## 仪器设备

1. F-732测汞仪(上海华光仪器仪表厂)

汞蒸气在2537 Å有强吸收, F-732测汞仪对2537 Å紫外光强度的测定,是利用间接测定法,即利用2537 Å紫外光激发荧光物质并产生可见光,再通过光电转换器件用电表或记录仪显示紫外光强度的变化量。

2. 消化仪器: 25ml圆底烧瓶, 标准磨口直型冷凝管。

3. 电热沙浴: 100~200°C, 由变压器调节温度。

4. 玻璃仪器处理方法<sup>(9)</sup>:

所有玻璃仪器经肥皂粉洗刷后,用自来水冲净,然后在1:2的 $HNO_3$ 溶液中浸泡一夜,取出后用蒸馏水冲三遍,再用去离子水冲洗2~3遍,烘干。

## 试剂及药品

1.  $HNO_3$ : 69~71% (分析超纯)

2.  $H_2SO_4$ : 95~98% (优级纯)

3.  $KMnO_4$ : (分析纯)

4. 还原剂: 20%  $SnCl_2$ 溶液

称取10g  $SnCl_2$  (分析纯),加浓 $H_2SO_4$  1.4ml,搅匀后加水10ml,加热至溶液澄清,加水至50ml即得。

5. 10%盐酸羟胺

称5g盐酸羟胺(分析纯),加水至50ml,溶解即得。

6. 标准汞溶液<sup>(10)</sup>:

(1) 标准汞贮备液: 1 mg/ml

准确称取 $HgCl_2$  (分析纯) 0.1354g,溶于1N  $H_2SO_4$ 后,再用1N  $H_2SO_4$ 稀释至100ml,摇匀即得。稳定期 $\geq 1$ 年

(2) 工作标准溶液A: 10 $\mu$ g/ml

取贮备液1ml,用1N  $H_2SO_4$ 稀释至100ml,即得,稳定期1个月内。

(3) 工作标准溶液B: 0.1 $\mu$ g/ml

取工作标准溶液A 1ml,用1N  $H_2SO_4$ 稀释至100ml,即得。此溶液须在使用时新配。

注: 配试剂所用水均为去离子水。

**方法和结果**

**(一) 样品消化**

取兔血浆1ml于25ml圆底烧瓶中,加浓HNO<sub>3</sub>2.5ml,摇匀,加浓H<sub>2</sub>S<sub>4</sub>1ml,接上冷凝管后,于沙浴中调节,慢慢加热至140℃,然后,维持在140~180℃1h,在这期间能产生大量棕色气体NO<sub>2</sub>。冷却后,加KMnO<sub>4</sub>0.3g,使溶液呈紫褐色,再加热至沸15分钟,冷却后,滴加10%盐酸羟胺至溶液褪成无色,过滤,加去离子水至25ml,摇匀即成。

**(二) 测定**

取标准汞溶液或样品消化后的待测液4ml,于还原瓶中,加20%SnCl<sub>2</sub>迅速接通F-732测汞仪的循环泵,时时振摇,读取最大吸收度值A,再根据标准曲线换算出溶液中汞的含量。

**(三) 标准线绘制:**

精密量取0.1μg/ml标准汞溶液0, 0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.25ml,于25

ml容量瓶中,并加水10ml,浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>1ml,浓HNO<sub>3</sub>2.5ml,5%KMnO<sub>4</sub>2ml,摇匀后放置15分钟以上,然后滴加10%盐酸羟胺以除去过量的KMnO<sub>4</sub>,用去离子水稀释至刻度,摇匀,即可得一组1.0; 2.0; 3.0; 4.0; 5.0ng/ml的标准汞溶液,然后从空白开始,低浓度到高浓度依次按(二)所述的测定方法于F-732上测定其吸收度A值,并以不同浓度测得的A值减去空白值的结果对不同汞浓度回归,经计算器回归的汞溶液标准曲线回归方程为:  $A = 1.7381 \times 10^{-4} + 0.0122C$ ,  $r = 0.9988$

标准曲线根据需要可加大浓度再测,经测定,标准汞溶液浓度在0~100ng/ml范围内与吸收度值A均成线性。

**(四) 回收率及其重演性试验**

为了检查消化方法的可靠性,可在空白血浆(1ml)中加入Hg<sup>2+</sup>的标准液: 25; 50; 100ngHg<sup>2+</sup>,按上法消化后做回收率试验,结果如下表1。

表1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>-KMnO<sub>4</sub>法测血浆中汞的回收率

| 样品        | 加入Hg <sup>2+</sup> 量(ng) | 实际测出汞量 (ng) | 回收率    | 平均回收率  | SD  | CV   |
|-----------|--------------------------|-------------|--------|--------|-----|------|
| 血浆<br>1ml | 25                       | 25.20       | 100.7% | 101.6% | 1.5 | 1.5% |
|           |                          | 25.83       | 103.3% |        |     |      |
|           |                          | 25.20       | 100.7% |        |     |      |
| 血浆<br>1ml | 50                       | 50.58       | 101.2% | 103.1% | 1.9 | 1.8% |
|           |                          | 52.48       | 105.0% |        |     |      |
|           |                          | 51.53       | 103.1% |        |     |      |
| 血浆<br>1ml | 100                      | 102.8       | 102.8% | 102.8% | 0.9 | 0.9% |
|           |                          | 103.7       | 103.7% |        |     |      |
|           |                          | 101.9       | 101.9% |        |     |      |

从H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>-KMnO<sub>4</sub>法的回收率结果看,回收率为101.6~103.1%,可见此方法较为可靠。

**(五) 应用**

家兔静注微量水溶性汞溶液后体内汞测定:分别给三只兔子耳缘静脉注射10μg/ml

的HgCl<sub>2</sub>生理盐水液,静注后10分钟心脏抽血,血浆经H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>-KMnO<sub>4</sub>法消化后测其含汞量。见表(2)

从以上实际应用H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>-KMnO<sub>4</sub>法及F-732测汞仪所做的试验可以看出,被检样的汞含量均是极微量的,约在10~120

表2

静注水溶性汞后兔血汞含量测定

| 兔号 | 注入的HgCl <sub>2</sub> 量 (μg) | 10分钟后血浆中汞浓度 (μg/ml) | 平均汞浓度 (μg/ml) | CV   |
|----|-----------------------------|---------------------|---------------|------|
| 1  | 10                          | 0.0528              | 0.0522        | 0.9% |
|    |                             | 0.0519              |               |      |
|    |                             | 0.0520              |               |      |
| 2  | 40                          | 0.0813              | 0.0811        | 0.7% |
|    |                             | 0.0805              |               |      |
|    |                             | 0.0815              |               |      |
| 3  | 80                          | 0.1176              | 0.1167        | 0.7% |
|    |                             | 0.1159              |               |      |
|    |                             | 0.1165              |               |      |

ng/ml血浆范围内,证明H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>-KMnO<sub>4</sub>法在测定血浆中微量汞含量是完全适用的,

### 讨 论

1. 有机质消化破坏方法很多,CRALG D SALISBURY<sup>(9)</sup>等曾报道用HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>的消化方法,我们重演了他们的办法,200ng HgCl<sub>2</sub>标准液的血浆回收率为99.7±8.3%。虽然方法的回收率较高,但消化时间较长,且步骤也较麻烦,故而未采用。同样,HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>3</sub>消化法<sup>(11)</sup>,虽然其回收率也有97.7±2.2%,但此方法回收量不稳定,也不如H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>-KMnO<sub>4</sub>

法方便。

此外,为了防止消化过程中汞的挥发损失,提高其回收率,我们尝试用了普通安瓿密闭消化法,以浓HNO<sub>3</sub>为消化液<sup>(12)</sup>,并在安瓿中加入一根盛定量碱的玻璃管,吸收消化过程中产生的二氧化氮,然后,在100℃水浴上加热1h即可进行测定,但于纯HNO<sub>3</sub>破坏有机质可能消化能力不如混酸强,致使消化不够完全,测定时泡沫较多,给测定造成不便。并且对HNO<sub>3</sub>破坏后的样品用F-732测定与加入KMnO<sub>4</sub>后的结果作了比较,如表3。

表3 用HNO<sub>3</sub>法测5 ng/ml标准汞液在加入KMnO<sub>4</sub>前后的不同

| 试 剂                                 | A 应白  |       |        | A 标   |       |        | —<br>A标—A空白 |
|-------------------------------------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|-------------|
|                                     | (1)   | (2)   | 平均     | (1)   | (2)   | 平均     |             |
| HNO <sub>3</sub>                    | 0.012 | 0.006 | 0.009  | 0.035 | 0.030 | 0.0325 | 0.0235      |
| HNO <sub>3</sub> +KMnO <sub>4</sub> | 0.006 | 0.005 | 0.0055 | 0.064 | 0.071 | 0.0675 | 0.062       |

可见当加入KMnO<sub>4</sub>后能使测定值读 数显著增高,灵敏度也相应提高。

2. 汞蒸气在水溶液中的溶解度与酸度有关,控制一定酸度也是本实验的关键之一,我们在测定时,使用了硫酸和硝酸,发现不同浓度的酸对测定结果有一定影响,如表

(4)。

从表4可以看出,H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>浓度>1N时,读数较为稳定,在1.44N硫酸浓度下,不同的HNO<sub>3</sub>浓度对读数有一定影响,但在HNO<sub>3</sub>浓度<2.5N时影响不明显,本实验使用的H<sub>2</sub>S<sub>4</sub>浓度为1.44N左右,HNO<sub>3</sub>浓度为

表4 不同酸度 10ng/ml 标准汞液测定的影响

|                                    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (N) | 0    | 0.5  | 1.0  | 1.5  | 2.0  | 1.44 | 1.44 | 1.44 | 1.44 | 1.44 |
| HNO <sub>3</sub> (N)               | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.5  | 1.0  | 1.5  | 2.0  | 2.5  |
| A                                  | 0.06 | 1.43 | 1.53 | 1.55 | 1.56 | 1.56 | 1.59 | 1.63 | 1.65 | 1.66 |

1.6N左右。

3. 测定时读数与还原剂SnCl<sub>2</sub>的量有关,我们在测定50ng/ml标准汞液时,加入不同量的还原剂(20%SnCl<sub>2</sub>),实验证明以2ml SnCl<sub>2</sub>最合适,若还原剂用量过大,虽有利于汞的还原,但会使反应总体积增大而影响测定灵敏度。20%SnCl<sub>2</sub>溶液在使用时最好临用前配制。

4. 低浓度的HgCl<sub>2</sub>在室温也有一定挥发性,尤其如0.1μg/ml的HgCl<sub>2</sub>,极不稳定,所以必须使用当天配制,而且当在配制标准汞溶液时,加入KMnO<sub>4</sub>后,最好在临测定前再用盐酸羟胺还原,因发现,加盐酸羟胺后的溶液稳定性是随时间减小的。

5. F-732测汞仪是目前国内测汞较普遍使用的仪器,操作简便,灵敏度也较高(不低于0.1μg/l),但由于仪器的日间重现性不是很好,所以每次样品测定时都必须做标准线,以减小误差。

参考文献

[1] Kenneth W. Official Methods of

Analgsis of A.O.A.C.1984: 468

[2] Ronald W. MARTS, J.Assoc. off; Anal Chem 66: 1421, 1983

[3] 周恒铎: 尿中汞测定, 职业中毒检验, 人民出版社, 1976; 132

[4] C.A.Johnson: Analytica Chimica Acta, 82: 79~82, 1976

[5] F.R.Barrett; The Analyst, 81: 298; 1956

[6] D.Gardner; Anal Chem Acta, 108; 13, 1979

[7] Irving Sunshine; Methodology for Analtdical Toxicology 226

[8] 日本药学会, 药毒物化学试验法注解(下)(日本)1984: 311

[9] CRAIG D.SALISBURY; J.Assoc off Anal Chem 68 (2): 218, 1985

[10] F-732测汞仪说明书

[11] Cyrus Feldman; Anal Chem 46: 1607 1974

[12] H.M.Stahr; Analytical Toxicoloy Methods Manual, 1980: 172

## pH指示剂吸收度比值法的改进

浙江医科大学药物分析教研室 沈向忠 史慧珍

pH指示剂吸收度比值法是一种容量法和分光光度法相结合的差示定量法。该法系精密称取一定重量范围的样品,准确加入一

定量的标准液及合适的指示剂溶液,加水定容后,在指示剂的酸式色、碱式色最大吸收波长处分别测得吸收度A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>,计算吸收度比