

# 用反相高效液相色谱法分析测定 Cd, Hg, Pb 和 Cu

丁朝武\* 李华斌

(四川师范大学分析测试中心 成都 610066)

**提 要** 用直接进样(C<sub>18</sub>柱)反相高效液相色谱法研究了 Me<sup>2+</sup>-Dz(二硫脲)体系的色谱行为,建立了同时测定 Cd, Hg, Pb 和 Cu 的分析方法。方法的线性范围为 0.01~2.0 mg/L,最低检出质量浓度为 2.4~5.0 μg/L,相对标准偏差为 1.8%~9.7%,回收率为 94%~103%(Hg 除外)。直接进样反相高效液相色谱法比萃取进样正相色谱法更快速,更简便,更容易操作,已用于人发测定。

**关键词** 反相高效液相色谱法, 镉, 汞, 铅, 铜, 人发

**分类号** O658/O614

## 1 前言

近年来,高效液相色谱法已广泛用于金属离子的测定中,与分光光度法相比,它能提高用有机试剂进行痕量分析的灵敏度和选择性,并可实现多种金属离子的同时测定,扩大了高效液相色谱的应用范围,实现了一机多用<sup>[1-3]</sup>。对于 Me<sup>2+</sup>-Dz(二硫脲)体系的 HPLC 色谱行为研究,目前只是使用硅胶柱,萃取后进样,苯或甲苯作流动相,采用吸附正相色谱的方法,且未能分离和测定 Cd<sup>[4,5]</sup>。本文用 C<sub>18</sub>柱直接进样,建立了用反相高效液相色谱同时测定 Cd, Hg, Pb 和 Cu 的分析方法。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器和试剂

**仪器** 日本岛津的 LC-6A 高效液相色谱仪和 UV-2600 紫外分光光度计。

**试剂** 25 g/L 二硫脲三氯甲烷溶液;10 g/L 维生素 C 溶液;将各种元素的标准溶液配制成 1.000 g/L 的贮备液<sup>[6]</sup>,用时以去离子重蒸水逐级稀释至所需质量浓度;甲醇(AR),重蒸馏;二次蒸馏去离子水;三氯甲烷(AR)。

### 2.2 实验方法

**标准系列溶液的配制** 取 5 个 10 mL 容量瓶,各加入 0.20 mL 三乙胺、0.20 mL 维生素 C 溶液、0.20 mL 二硫脲三氯甲烷溶液、1.00 mL 三氯甲烷,再分别加入 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 mL 10.0 mg/L 的 Cd, Hg, Pb, Cu 混合标准溶液,加甲醇至刻度线,混匀。

**分析测定** 色谱条件见图 1 注,待基线稳定后,

取 5 μL 标准溶液进样,每个质量浓度重复进样 3 次,取色谱峰面积的平均值。

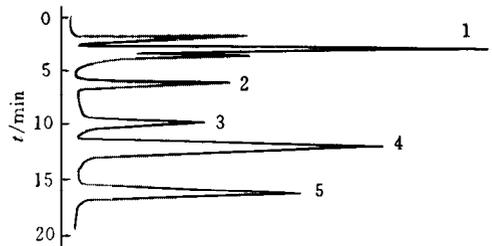


图 1 镉、铜、铅和汞标准溶液的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup> standard solution

**色谱条件(Conditions):** 色谱柱(column), Shim-pack CLC-ODS (96mm×150mm, 5μm), 流动相(mobile phase): V(甲醇): V(水): V(三氯甲烷)(含体积分数为 1% 的三乙胺)[V(methanol): V(water): V(chloroform)(containing volume fraction 1% triethylamine)]= 80: 12: 8, 流速(flow rate): 1 mL/min, 柱温(column temperature): 室温(room temperature), 检测波长(detection wavelength): 254nm, 满量程吸光度(Aufs)= 0.02。1. 试剂(reagent), 2. Cd, 3. Pb, 4. Cu, 5. Hg。

**定量分析** 以标准试样系列的色谱峰面积对相应离子浓度(mg/L)绘制标准曲线或经线性回归后得出回归方程。测定样品时,用样品(3 次测试)平均峰面积查寻相应的标准曲线或用回归方程式计算出样品中各元素的含量。

## 3 结果与讨论

### 3.1 Me<sup>2+</sup>-Dz 体系的色谱行为

在建立定量分析方法前,我们用 RP-HPLC 研究了 Me<sup>2+</sup>-Dz 体系的色谱行为。在配制测定液时,

\* 本文收稿日期:1997-06-07,修回日期:1997-12-09

各试剂的加入顺序经多次试验确定为: 三乙胺→ 维生素 C→ 二硫脲→ 1.0 mL 三氯甲烷→ 加标液→ 再加甲醇至 10 mL。试验说明, 按此顺序配液, 可避免产生沉淀再溶解这一过程。用三乙胺调 pH 约为 9, 有利于络合物的形成和稳定, 但在此 pH 条件下, 二硫脲易氧化, 因此应加入维生素 C 作抗氧化剂。

在 V(甲醇): V(水) = 80: 20 作流动相, 流速为 1 mL/min 情况下, 检测波长为 275 nm 时, 未能检测出 Cd, Cu, Pb 和 Hg; 为 550 nm 时, 未能检出 Cu; 为 520 nm 时, 未能检出 Pb; 为 485 nm 时, 未能检出 Hg。我们是根据测定这些离子的分光光度法文献所提供的测定波长进行试验的。未能检出, 说明对流动相或色谱柱的选择不当。因此, 改变流动相, 以 V(甲醇): V(水): V(三氯甲烷) = 80: 10: 10 为流动相, 流速 1 mL/min, 检测波长 254 nm, 能定性检测出 Cu, Hg, Cd, Fe, Co, Ni 等 6 种离子。若将流动相改为 V(甲醇): V(水): V(三氯甲烷)(含体积分数为 1% 的三乙胺) = 80: 10: 10, 其它条件不变, 则除上述 6 种离子外, 还可定性检出 Pb。

我们对 Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Sn<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Tl<sup>+</sup>, As<sup>V</sup>, Se<sup>VI</sup>, V<sup>V</sup>, Cr<sup>VI</sup> 等 16 种离子进行了分离探索。在上述条件下检测出 Fe<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup> 等 7 种离子, 按不同需要和性质分为两组, 本文仅给出 Cd, Cu, Pb, Hg 的测试结果, Fe, Co, Ni 将另文叙述。

### 3.2 色谱条件的选择

对于固定相, 早期的络合 HPLC 主要是采用硅胶柱<sup>[4,5]</sup>, 现在多采用 C<sub>18</sub> 和 C<sub>8</sub> 等烷基键合相。本文选用 C<sub>18</sub> 柱。据文献报道, 由于普通 C<sub>18</sub> 柱存在 Si-OH 活性基团, 因此稳定性差的络合物将在柱中离解而不能在柱后检测出络合物峰。采用在流动相中加入络合剂或加入三乙胺, 或者采用柱后衍生方式都可以抑制 Si-OH 的影响。本文采用加三乙胺的方法, 柱温不宜过高, 否则络合物不稳定。本法可以选择室温, 但为了进行比较, 使温度的影响一致而不受环境、季节变化的干扰, 选定了最高柱温为 35℃。各 Me<sup>n+</sup>-Dz 络合物的最大吸收波长不同, 考虑到检测器光源 D<sub>2</sub> 灯在 254 nm 左右发光强度最大, 故检测波长选定为 254 nm。

### 3.3 方法的性能指标

线性范围 本文试验了所测 4 种离子在 0.005

~ 2.0 mg/L 质量浓度范围内峰面积 S 与质量浓度 C 的线性关系(见表 1)。

表 1 方法的线性范围和回归方程  
Table 1 Linear range and regression equation of the method

被测组分 Analyt	质量浓度范围 Mass conc. range(mg/L)	回归方程 Regression equation	相关系数 r
Cd	0.01~ 2.0	S = 807325C+ 1265	0.9998
Cu	0.01~ 2.0	S = 408563C+ 1876	0.9995
Pb	0.02~ 2.0	S = 428576C+ 1523	0.9993
Hg	0.02~ 2.0	S = 612534C+ 1081	0.9994

检出限 在本文的色谱条件下, 以基线噪音的 2 倍的信号所相当的离子浓度为本方法的最低检出浓度, 根据进样量 5 μL, 计算出最小检出量(见表 2)。

表 2 方法的检出限

Table 2 Detection limits of the method

被测组分 Analyt	最低检出质量浓度 M in. detectable mass conc. (mg/L)	最小检出量 M in. detectable amount (ng)
Cd	0.0024	0.012
Cu	0.0026	0.013
Pb	0.0050	0.025
Hg	0.0047	0.024

精密度实验 结果见表 3。

回收率 精确称取 10 份各为 1 g 经洗涤、烘干的混合头发样, 干灰化<sup>[7]</sup>后加 1 mL 硝酸(1: 10)溶解残渣。1~ 5 号为不加标平行样, 6~ 10 号为各加入 0.5 mL 含被测离子浓度为 5 mg/L 的混合标准溶液的平行样, 均用水定容为 5 mL。取 2 mL 进行络合反应。发样和加标发样均为 5 份平行样, 每个样品测试 2 次, 测试结果见表 4。从表 4 可见, 本方法的平均回收率为 94% ~ 103%。

干扰试验 锌、锰、锡、砷、硒、铝、铊、钒、铬等离子在测定液中的浓度已达到 20 mg/L, 在该色谱条件下不出峰, 铁、钴、镍在此条件下出峰, 但不能相互分离, 保留时间在镉和铅之间, 当其在测定溶液中质量浓度小于 2 mg/L 时无干扰。

表 3 方法的精密度( $n=10$ )

Table 3 Precision of the method

被测组分 Analyt	测定值范围 Content range (mg/L)	$\bar{x}$ (mg/L)	SD (mg/L)	RSD (%)
Cd	0.097~0.102 <sup>a</sup>	0.100	$1.8 \times 10^{-3}$	1.8
	0.032~0.039 <sup>b</sup>	0.036	$2.5 \times 10^{-3}$	6.9
Cu	0.097~0.104 <sup>a</sup>	0.101	$4.1 \times 10^{-3}$	4.1
	0.567~0.728 <sup>b</sup>	0.644	$5.4 \times 10^{-2}$	8.4
Pb	0.096~0.101 <sup>a</sup>	0.099	$4.3 \times 10^{-3}$	4.3
	0.423~0.558 <sup>b</sup>	0.496	$4.8 \times 10^{-2}$	9.7
Hg	0.097~0.101 <sup>a</sup>	0.099	$3.5 \times 10^{-3}$	3.5

a. 标准溶液(standard solution), b. 样品液(sample solution).

表 4 方法的加标回收率

Table 4 Results of recovery

被测组分 Analyt	测定液本底值 Concent (mg/L)	加入量 Added (mg/L)	回收值 Recovery (mg/L)	回收率 Recovery (%)
Cd	0.036	0.100	0.095	95
Cu	0.644	0.100	0.103	103
Pb	0.496	0.100	0.094	94

## 参 考 文 献

- 1 袁有宪. 分析化学, 1990, 18(1): 87~96
- 2 程介克, 张新祥. 分析化学, 1990, 18(9): 878~886
- 3 程介克. 高等学校化学学报, 1995, 16(5): 696~703
- 4 O'Laughlin J W, O'Brien T P. Anal Lett, 1978, A11(10): 829-844
- 5 Lohmiller M, Heizmann P, Ballschmieder K. J Chromatogr, 1977, 137: 165-170
- 6 杭州大学化学系分析化学教研室编. 分析化学手册. 第二分册. 化学分析. 北京: 化学工业出版社, 1986. 7~10
- 7 刘丽琴, 王永喜, 刘德勇. 微量元素与健康研究, 1994, 11(3): 49

## Determination of Cd, Cu, Pb, Hg by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography

Ding Chaowu and Li Huabin

(Analysis and Testing Center, Sichuan Normal University, Chengdu, 610066)

**Abstract** The chromatographic behaviors of  $\text{Me}^{2+}$ -Dz (dithizone) have been studied with RP-HPLC. A method for the determination of Cd, Cu, Pb and Hg has been established. The chromatographic conditions were: column: Shim-pack CLC-ODS, 150 mm  $\times$  6.0 mm i.d.; mobile phase: V(methanol): V(water): V(chloroform) (containing volume fraction 1% triethylamine) = 80: 12: 8; flow rate: 1 mL/min; column temperature: 35°C; detection wavelength: 254 nm. The linear ranges were from 0.01 mg/mL to 2.0 mg/mL with correlation coefficients of 0.9993-0.9998. The detection limits of Cd, Cu, Pb, Hg were from 2.4  $\mu\text{g/L}$  to 5.0  $\mu\text{g/L}$ . The RSDs were in the range from 1.8% to 9.7%, and the recoveries ranged from 94% to 103% (except Hg). The method has been applied to the analysis of hair.

**Key words** reversed-phase high performance liquid chromatography, Cd, Cu, Pb, Hg, hair

## 《仪器分析试剂》手册征购

由周良模、商振华、万邦和等教授编著的《现代化学试剂手册·第六分册 仪器分析试剂》(16开精装本)已于1998年1月由化学工业出版社正式出版发行。全书共分气相色谱试剂、高效液相色谱试剂、平面色谱试剂、色谱衍生化试剂、光谱分析试剂、波谱分析试剂、电化学分析试剂等九章890页,约150万字。分别介绍了1300种试剂的名称、结构式、理化性质及参数、制备方法和用途等。附有中、英文名称索引,是从事仪器分析和试剂研制人员必不可少的工具书。每册定价98元,另加挂号邮资费12元,共计110元(开具正式报销发票)。欲购者请速将书款寄至大连市中山路161号中国科学院大连化学物理研究所商振华处(邮编116011),款到后即寄书和发票。