

血 液 中 微 量 銻 的 測 定 法^{*}

曹金鴻 盧湧泉 湯騰漢

(中國人民解放軍醫學科學院)

血吸蟲病的治療現在還缺乏療效高而毒性小的藥物，目前治療血吸蟲病最常用的藥物仍為吐酒石(酒石酸銻鉀)。由於銻劑是一種毒性較大的藥物，劑量過多易引起中毒甚至死亡，而劑量過少又不足以治病。同時銻劑在人體內的吸收與排泄的情況，常常因人而異。所以銻劑的臨床應用必須採取特別審慎的態度，隨時檢查病人血液中銻的濃度實為決定注射量與口服量多少的最可靠的方法。

測定組織內銻量的方法一般可採用極譜法^[1-3]與丹明 B 法^[4-7]。前者省力而靈敏度較低，後者費力而靈敏度較高，故為了減少化驗時血液用量，一般多採用後一方法。

分光或分級光度分析法的相對誤差可用下式表示^[8]

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{-0.4343 \Delta \left(\frac{I}{I_0} \right)}{\frac{I}{I_0} \log \frac{I}{I_0}},$$

式中 c 代表被試驗物質的濃度， $\frac{\Delta c}{c}$ 為相對誤差， $\frac{I}{I_0}$ 為透光率， $\Delta \left(\frac{I}{I_0} \right)$ 為讀取光度表上透光率時的誤差數。一般良好的分級光度計， $\Delta \left(\frac{I}{I_0} \right)$ 值都在 0.5% 以下，若將有關數值代入上式中得表 1。

表 1. 不同透光率溶液比色分析時的相對誤差值

$\frac{I}{I_0}$ 值, %	$\frac{\Delta c}{c}$ [設 $\Delta \left(\frac{I}{I_0} \right) = 0.005$], %
100	∞
95	10.4
90	5.1
80	2.6
70	2.0
60	1.6
50	1.4
40	1.3
30	1.4
20	1.6
10	2.1
5	3.3

* 1956 年 9 月 13 日收到。

从表 1 可以看出,为了使比色分析获得最高准确度,必需寻找合适条件,使样品溶液的 $\frac{I}{I_0}$ 值保持在 20—60% 之間。測定血液中鉍的含量一般不需要太高的准确度,为了使誤差不致超过 $\pm 2.0\%$, 样品比色濃度应保持 $\frac{I}{I_0}$ 值在 80% 以下。平常用罗丹明 B 法測定血液中含鉍量并使用 1 厘米比色管比色时,为了达到这点,需要血样 10 毫升左右。为了减少血液用量可以从增長比色管厚度着手,我們試用了厚度为 10 厘米的比色管进行試驗,發現用罗丹明 B 法很难达到稳定的分析結果。应用作者等曾提出的孔雀綠法^[9] 結果尚屬滿意。由于增長比色管厚度的結果,血液取用量可从 10 毫升减少到 1 毫升。此外我們并改进了有机質的破坏方法,首先用硝酸水解及氧化有机質,然后加硫酸来完成血液的破坏。由于在此过程中避免或减少了焦化現象,使血液破坏時間从数小时而降低为 8—12 分鐘。茲將試驗方法与結果报告如下。

实 驗 部 分

所需試剂及設備

尿素溶液: 8 克尿素溶于 15 毫升水中。

1 N 亞硝酸鈉溶液: 0.1 克当量 NaNO_2 溶于水使成 100 毫升。

30% 氯化鈉溶液: 用国产特純品配制。

0.2% 孔雀綠試液: 取孔雀綠 50 毫克溶于 25 毫升水中。

Sb^{+++} 标准溶液 (50 γ /毫升): 称取精制的酒石酸鉍鉀 0.137 克溶解于水使成 1000.0 毫升。

Sb^{+++} 标准溶液 (2.5 γ /毫升): 吸取上液 25.0 毫升,加水稀釋至 500.0 毫升。

硫酸: 国产特純品。

硝酸: 国产特純品。

血: 抽取兔血,并加枸橼酸鈉适量以避免血凝固,保存在冰箱中备用。

分級光度計: 商品分級光度計(即光电比色計)大都为 10 毫米或 20 毫米的比色管設計的,不合我們的用途。为了增進比色的灵敏度,我們設計了一架适合 100 毫米比色管的分級光度計。該計大部分系用木料車制而成,外形見圖 1。比色管的有效長度为 100 毫米,內徑为 8.5 毫米的厚壁玻管制成,二头用圓形盖玻片复盖,并用螺旋金屬銅帽固定。比色管中部略向外凸出(为了收集空气泡)。該計的光学部分構造如圖 2。光源为普通手电筒用 6 伏特灯泡,所用凸透鏡的焦距为 85 毫米。光綫透过凸透鏡后使变成平行光綫。光綫之平行与否,对于本試驗非常重要,使用長而細的比色管时,若光綫不够平行,則易射在管壁上,發生不規則的散射及吸收現象而影响分析結果的准确性。为

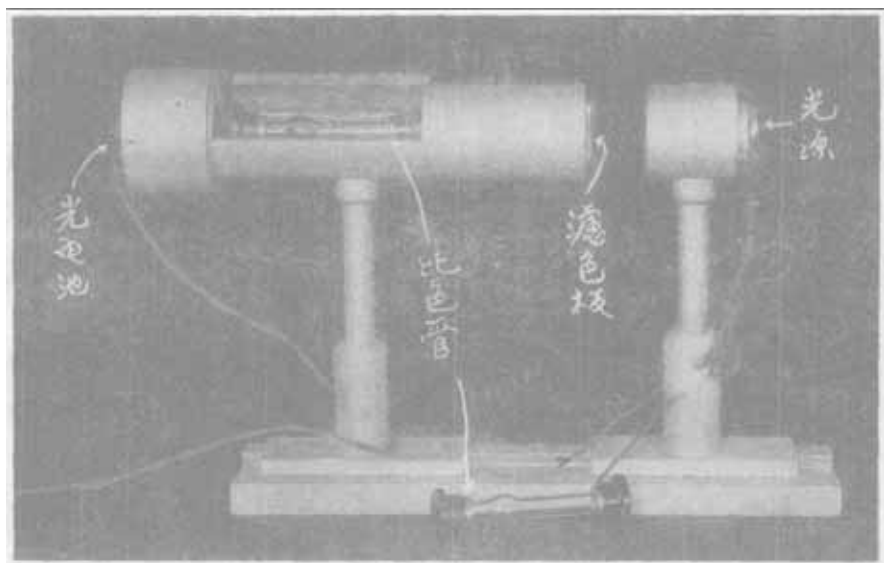


圖 1. 比色計外觀圖

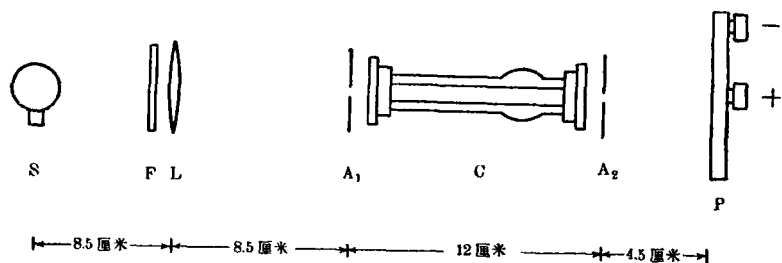


圖 2. 分級光度計光譜系統

S. 光源; F. 濾光板; L. 凸透鏡; A₁, A₂. 光闌; C. 比色管; P. 光電池。

了保證光綫達到足夠的平行，在光路上還置有二處光闌，所用光闌的直徑均為 4.5 毫米，使用時先將光源由遠處徐徐移向凸透鏡，調整光源位置（前後、高低、左右），使光源燈絲的像恰巧聚集在第二光闌的中心處，再將光源略向前推，使光源之像變為模糊並明暗均勻為止。其餘裝置與一般光电比色計同，光電池上所產生的電流，用 Dr. B. Lange 牌 MFG 3 型的電流計（multiflex galvanometer）測量（靈敏度為 $2 \times 10^{-9} \text{A}/\text{毫米}$ ）。

實驗手續

精密吸取含 Sb^{+++} 的血液 1 毫升，置於硬質玻璃試管中（ 25×150 毫米）。加濃 HNO_3 1 毫升及小浮石一塊或細玻璃絲數段，用小火加熱至沸，並繼續加熱至溶液呈棕黃色，將火移去，加入濃 H_2SO_4 0.5 毫升，再繼續用小火加熱（若在加熱過程中溶液焦化，應繼續滴入濃 HNO_3 數滴）至有明顯的 SO_3 白色濃煙出現為止。此時管中的溶液應為

透明帶淺黃色；冷卻後變為白色；若溶液仍帶有棕黃色，可加 HNO_3 數滴後重行加熱至有白色濃煙出現為止。整個破壞過程需時 8—12 分鐘。冷卻，加 NaCl 溶液 1 毫升及 NaNO_2 溶液 0.5 毫升，振搖 2 分鐘，加尿素溶液 1 毫升。將此溶液倒入置有 10.0 毫升苯的分液漏斗中。試管用水洗三次，每次 5 毫升，洗液并入漏斗中。加孔雀綠試液 10 滴，立刻用力振搖 5 分鐘。將苯液層分入一離心管中，置离心机中离心三分鐘後，取苯層溶液置于 100 毫米比色管中進行比色。所用濾光板為 Ilford 607，以苯作為空白溶液。

實驗結果及討論

取血液 1 毫升，加 Sb^{+++} 標準溶液不同量，按上法進行分析，所得結果如表 2。

表 2. 分析結果表

血中 Sb^{+++} 含量 γ 數	透 光 率, %			相當的吸光度 $\times 100$
	第 一 次	第 二 次	平 均	
0	95.1	95.2	95.15	2.2
0.5	83.4	84.4	83.9	7.6
1.0	71.4	72.2	71.8	14.4
1.5	63.2	64.3	63.75	19.5
2.0	53.0	53.4	53.2	27.4
2.5	48.8	47.2	47.0	32.8
3.0	39.6	39.8	39.7	40.1

根據表 2 數據以吸光度為縱座標， Sb^{+++} 含量為橫座標作圖得圖 3。從圖 3 可知

Sb^{+++} 含量從 0.1—3 γ 之間能與吸光度成正比。

注射銻劑後病人血液中每毫升血液含銻量係在 0—5 微克之間，平均在 1 微克左右^[10]。根據我們提出的方法採用 1 毫升血樣，若含 Sb^{+++} 量為 1 微克時，它的透光百分率係在 80% 附近，從表 1 上可以查出它的相對誤差值為 $\pm 2.0\%$ 。從分析結果（見表 2）可以算出此時二次分析結果的相對誤差為 $\pm 1.7\%$ ，證明本法的準確度可以達

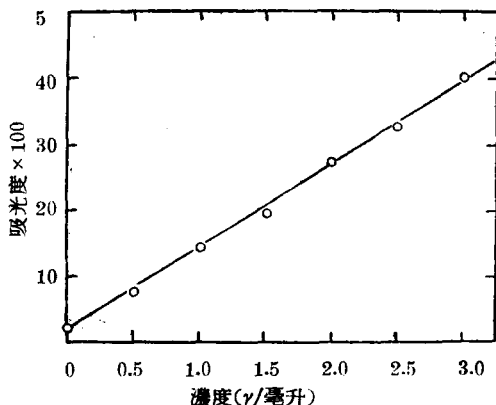


圖 3. 測定血液中 Sb^{+++} 的校正曲綫圖

到理論的結果。

为了使分析結果有很好的复演性，保持划一的實驗条件是十分必要的，其中包括血液破坏时加热情况，氧化 Sb^{+++} 时的酸度，時間及用苯抽取帶色化合物的振搖情况与時間等。用我們提出的方法破坏血液所需時間系 8—12 分鐘，視加热情况而定。我們做这試驗时，尽量保持破坏時間在 10 分鐘附近。所用破坏血液的容器系硬質試管，質料很好，在加 H_2SO_4 时毋需停止加热；但所需 H_2SO_4 系用移液管量取，并一滴一滴地从試管边上加入。破坏过程中常常有焦化現象（溶液变棕色）發生，必需随时再加濃 HNO_3 數滴以加速氧化作用。在用苯抽取帶色化合物时，开始用力振搖 3 分鐘，以后再徐徐振搖 2 分鐘。苯層溶液經离心除去細小水滴后，由于放置時間延長，溶液的顏色会逐渐变淺（每小时吸光度变化 1.2%^[9]），故应在 15 分鐘內进行比色，或者將各次實驗的停留時間保持一致，不然难于获得良好的复演性。血样每毫升含銻量在 3 微克以上时，可采取 0.5 毫升样品；含銻量低于 0.5 微克时，为了保持一定的准确度宜加倍取样；但破坏时应加 HNO_3 及 H_2SO_4 的量不宜改变，以保持在抽取帶色化合物时溶液酸度的划一。

摘 要

作者等提出了血液中有機質的快速破坏法及采用孔雀綠比色法測定血样中微量銻。本法破坏血样所需時間为 10 分鐘左右，所需血样为 1 毫升。

致謝：本文承儲俊民同志供給一部分資料及协助，謹此志謝。参加此項工作者尚有楊松成同志。

参 考 文 献

- [1] Kacirkava, K., *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 1929, 1, 477.
- [2] Page, J. E. and Robinson, F. A., *J. Soc. Chem. Ind.*, 1942, 61, 93.
- [3] Lingane, J. J., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1943, 15, 585.
- [4] Fredrick, W. G., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1941, 13, 922.
- [5] Webster and Fairhall, *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, 1945, 27, 183.
- [6] Maren, T. H., *Anal. Chem.*, 1947, 19, 487.
- [7] 儲俊民、湯騰汉，*藥学学报*，1955, 3 (3), 249-256.
- [8] Ayres, G. H., *Anal. Chem.*, 1949, 21, 652-657.
- [9] 曹金鴻、盧湧泉、湯騰汉，*藥学学报*，1956, 4 (2), 107-116.
- [10] 朱隴、李学驥、張学貞、刘堃荣，*血吸虫防治資料彙編*，1955, 117-135.

A RAPID MICRO COLORIMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF ANTIMONY IN BLOOD

TSAO KING-HUNG, LOO YUN-CHIENG AND TANG TENG-HAN

ABSTRACT

A colorimetric method for the determination of antimony in the range 0.1 to 3.0 μg per milliliter blood is described. The time needed for the destruction of organic matter is shortened to 8—12 minutes. The proposed method is as follows:

Accurately transfer 1 ml of blood sample to a hard glass test tube (25 \times 150 mm.), to which 1 ml of conc. HNO_3 is then added. Heat gently with a small flame till the solution changes to amber color. Add 0.5 ml conc. H_2SO_4 and heat again carefully until dense white fume is evolved. If the solution is not clear, add a few more drops of HNO_3 and heat repeatedly till a clear colorless solution is obtained. Cool, add 1 ml NaCl solution and 0.5 ml NaNO_2 solution, shake for 2 minutes, then add 1 ml of urea solution. Transfer the mixture to a separatory funnel containing 10.0 ml benzene. Wash the test tube with three portions (5 ml) of distilled water, add 10 drops of malachite green reagent solution and shake the mixture immediately for 5 minutes. Separate the benzene layer in a centrifuge tube and centrifuge 3 minutes to separate the suspended droplets of water. Transfer the benzene solution into a 10 cm cell and measure the extinction with an Ilford 607 filter, using benzene as blank.