

血液及尿中微量銻的比色測定*

呂 繇 庆

(重慶醫學院化學教研組)

血液中微量銻的測定,目前仍廣泛應用羅丹明 B^[1-3]法。用此法測定微量銻時,為了免除鐵離子的干擾作用,可利用醋酸戊酯在酸性溶液中將 HSbCl_6 萃出,但必須控制溶液的酸度,當溶液酸度太高時,鐵也同時被萃出^[3]。若利用結晶紫^[5-7]作為測定血液中微量銻的試劑,不但靈敏度大於羅丹明 B,空白試驗着色淺,並且鐵離子的干擾作用極其微小,因此在用醋酸戊酯提取 HSbCl_6 時不必嚴格控制溶液的酸度。

本法利用過量的過氯酸加速血液及尿中有机質消化過程,使加熱時間縮短至30分鐘,並使消化終了時銻仍保持在五價狀態,省去了用亞硫酸鈉溶液煮沸還原及其後的使用硫酸銻進行氧化的二個步驟,縮短了測定所需要的时间。

儀器及試藥

儀器 Dr. B. Lange VI 型光電比色計。

試藥

標準銻溶液——將 685.0 毫克酒石酸銻鉀加蒸餾水溶解,移入 250 容量瓶中,加比重 1.19 濃鹽酸 42 毫升,加水稀釋至標線。此 2N 鹽酸溶液每毫升含銻 1000 微克,根據需要 用 2N 鹽酸稀釋至需要濃度。

0.1% 結晶紫——0.1 克溶于 100 毫升蒸餾水中。

醋酸(異)戊酯——國產分析試劑。

氯化鈉溶液——10 克溶于 90 毫升蒸餾水中。

硫酸(比重 1.84),硝酸(比重 1.4),60% 過氯酸,鹽酸(0.3N 及 6N)。

方法及試驗結果

血液中微量銻的測定 於多個 60 毫升凱氏燒瓶中,加入血液 1—4 毫升、過氯酸 1 毫升、濃硝酸 3 毫升、濃硫酸 3 毫升,搖勻後立即變成棕色溶液,加入玻璃塊二粒,立即在電爐上加熱。血液多於 1 毫升時可能出現焦化現象,可沿壁滴入濃硝酸 15 滴,直至焦化現象不再出現,溶液逐漸變清。繼續加熱時,過量的過氯酸發泡分解,溶液變為綠黃色,繼續加熱到氣泡停止發生或只有斷續的陣沸現象時,再多加熱數分鐘,保證全部過氯酸分解¹⁾。停止加熱,溶液為淡黃色,冷至室溫,溶液變為無色。

在水浴鍋中置碎冰及水各半,將燒瓶在冰水浴中先冷卻 1—2 分鐘後,用移液管吸取氯化鈉溶液 5 毫升置燒瓶頸內壁,燒瓶在冷卻並不絕振搖下,將氯化鈉溶液緩緩加入,加

* 1959 年 1 月 20 日收到。

1) 若過氯酸未分解完全,殘余過氯酸能被醋酸戊酯部分萃出,與結晶紫能顯色,影響銻的測定。

毕后,溶液可因含铁而变为黄色。将内容物倾入 30 毫升分液漏斗中,烧瓶以 3 毫升蒸馏水洗滌,洗液併入分液漏斗中,并立即搖匀。加入醋酸戊酯 5 毫升,振搖一分鐘,放置片刻后分去水层,加入 6N 盐酸 5 毫升,振搖半分鐘洗滌并弃去水层,再放置 1—2 分鐘后,将残余水层全部分去。

在另一分液漏斗中,加入 0.1% 結晶紫 0.5 毫升、0.3M 盐酸 5 毫升(临时混合),将上述含錫的醋酸戊酯傾入此分液漏斗中,剧烈振搖一分鐘,放置,分出上层醋酸戊酯离心后在光电比色計上比色,以純溶剂为空白,用 1cm 比色杯及草黄色濾光片 (590m μ)。

尿中微量錫的測定 将尿 0.5—5 毫升,加过氯酸 0.5 毫升、浓硝酸 0.5 毫升、浓硫酸 3 毫升在凱氏烧瓶中加热至过氯酸分解完全,溶液变为无色再多加热数分鐘,其余操作同前。

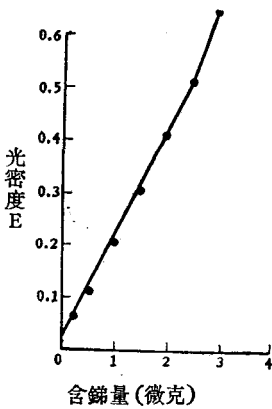


图1 比色測定錫的标准曲綫

标准曲綫的繪制 取血液 1 毫升、标准錫溶液不等量,其余过程同前。当含錫量在 2.5 微克以下时符合 Beer 定律。含錫量大于 2.5 微克时,可将离心后着色的醋酸戊酯用移液管吸取 2—3 毫升,用相当于 5 毫升醋酸戊酯、5 毫升 0.3M 盐酸及 0.5 毫升試剂处理过的醋酸戊酯稀释至适当倍数后再行比色。

显色时酸度影响 若显色时溶液酸度过高,測定錫的灵敏度降低;当显色时所用 5 毫升盐酸浓度低于 0.3M 时,光密度值略有升高,然而空白值增高甚多。若含錫醋酸戊酯层不經 6N 盐酸洗滌一次就显色則空白值显著增加。洗滌二次效果与一次相等。

試剂量的影响 从表 2 可知,当試剂量增加时,光密度值随之增加,同时空白值也增加。

显色时, 0.5 毫升試剂及 5 毫升 0.3M 盐酸必須在临用时混合,若混合后放置短时期,

表 1 显色时酸度的影响

显色时所采用的 5 毫升盐酸浓度	試剂与盐酸混 合后的色调	A	B	A - B	未經 6N HCl 洗滌 一次即行显色的空 白試驗光密度 (E)
		2 微克錫的光密度 (E)	空白試驗的光密度 (E)		
0.1 M	青 藍	0.469	0.073	0.395	0.337
0.2 M	藍 綠	0.415	0.033	0.382	0.149
0.3 M	暗 綠	0.412	0.024	0.380	0.046
0.4 M	綠	0.399	0.022	0.377	0.043
0.5 M	黃 綠	0.382	0.018	0.364	0.036
0.6 M	黃 綠	0.362	0.016	0.346	0.027

表 2 試剂量的影响

0.1% 結晶紫毫升数	A 2 微克錫的讀数(E)	B 空白試驗讀数(E)	A - B
0.1	0.347	0.013	0.334
0.2	0.375	0.018	0.357
0.3	0.407	0.022	0.385
0.4	0.409	0.022	0.387
0.5	0.414	0.024	0.390
0.6	0.418	0.027	0.391

表3 用本法測定血液及尿中微量銻的結果

試 樣	加入銻(微克)	回 收 銻 量 (微 克)	消化時間	焦化現象
血 1 毫升	0.1	0.115, 0.10, 0.08, 0.11, 0.10, 0.115	30分鐘	无
	0.2	0.18, 0.15, 0.20, 0.20, 0.23, 0.21	”	”
	0.5	0.48, 0.465, 0.48, 0.465, 0.49, 0.48	”	”
	1.0	0.94, 0.96, 0.94, 0.95, 0.96, 0.95	”	”
	1.5	1.49, 1.48, 1.49, 1.45, 1.49, 1.48	”	”
	2.0	2.02, 2.06, 2.02, 2.0, 2.0, 2.02	”	”
	2.5	2.54, 2.6, 2.45, 2.6, 2.5, 2.54	”	”
	3.0	2.82, 3.0, 2.95, 2.90, 2.90, 3.02	”	”
	4.0	4.06, 4.1, 4.06, 4.12, 4.02, 4.02	”	”
血 3 毫升	1.0	0.99, 0.97, 0.99, 0.97, 1.0, 1.02	”	有
血 4 毫升	1.0	0.99, 0.99, 1.0, 0.97, 0.95, 0.985	”	有
尿 5 毫升	1.0	0.98, 0.95, 0.93, 0.95, 0.96, 0.98	”	无

溶液的顏色漸漸消褪,要影响試剂的用量。用本法測定血液及尿中微量銻的結果如表 3。

使用本法时,为使消化終了时銻保持在五价状态,血液量多于 4 毫升时不宜采用,因为血液量太大而过氯酸不足时,高价銻可因消化过程中焦化現象的出現而被还原至低价。

摘 要

作者利用过量的过氯酸加速血液消化过程。血液量为 1—4 毫升时,消化時間縮短至 30 分鐘,并使消化終了时,銻保持在五价,省去了用亚硫酸鈉还原及用硫酸銻进行氧化的二个步驟,縮短了測定所需時間。

利用結晶紫作为試剂,醋酸戊酯作为提取 HSbCl_6 及显色时的溶剂,制訂了一个測定血液及尿中微量銻的方法,灵敏度大于罗丹明 B 法。測定 1 微克銻时平均誤差为 5%,測定 0.1 微克銻时平均誤差为 10%。

参 考 文 献

- [1] Maren, T. H., *Ind. Eng. Chem., Anal. ed.*, 1947. 19, 487.
- [2] Mcchesney, E. W., *Ind. Eng. Chem., Anal. ed.*, 1946. 18, 146.
- [3] 沈美玲、張惠民、丁光生, *生理学报*, 1957. 21, 127.
- [4] 何貞現、龔振家、王雪英、張丽丽、李亮, *生理学报*, 1957. 21, 167.
- [5] 曹金鳴、卢涌泉、湯騰汉, *药学报*, 1956. 4, 107—116.
- [6] В. И. Кузнецов, *Журн. анал. Хим.*, 1947. 11, 3.

COLORIMETRIC MICRODETERMINATION OF ANTIMONY IN BLOOD AND URINE WITH CRYSTAL VIOLET

LEU YU-CHENG

(Department of Chemistry, Chungking Medical College, Chungking)

ABSTRACTS

A rapid and sensitive colorimetric micro method for the determination of antimony in blood and urine was proposed. Only 30 minutes were required to digest more than five samples.

1 ml perchloric acid, 3 ml conc. HNO_3 and 3 ml conc. H_2SO_4 are added to the sample (1—4 ml of blood). Digest with additional conc. HNO_3 if charring appears. After the decomposition of the excess of perchloric acid is completed, cool in an ice bath and add slowly 5 ml of aqueous solution of NaCl , then 3 ml of water for washing the flask. The HSbCl_6 is extracted with 5 ml of amyl acetate. The amyl acetate layer is washed with 5 ml of 6N HCl and the upper layer is separated and shaken with a mixture of 0.5 ml of 0.1% crystal violet and 5 ml of 0.3 M HCl for one minute. Take the centrifuged colored amyl acetate layer for color measurement in an electric photometer using green yellow filter (590m μ). If the color is too intense, dilute the colored extract with amyl acetate previously shaken with a mixture of 0.3 M HCl and 0.1% crystal violet.

For micro determination of antimony in urine, using 0.5 ml of perchloric acid, 0.5 ml of conc. HNO_3 and 3 ml of conc. H_2SO_4 , then proceed as above.