

双波长光度法测定苦参、黄芪中的铜含量

刘嘉坤^{1*}, 邢云帆², 张淑凤¹

(1. 沧州医学高等专科学校, 河北 沧州 061000; 2. 美国爱荷华大学, 美国 爱荷华州, 522421217)

[摘要] 目的:建立了双指示剂催化动力学光度法测定痕量铜的新方法。方法:在酸性介质中,铜离子催化甲基橙和亚甲基蓝双指示剂的氧化褪色反应,通过催化体系和非催化体系吸光度变化与铜离子浓度之间的关系,建立了测定痕量铜的方法。结果:铜(Ⅱ)在 0.005 0~0.160 mg·L⁻¹,与催化反应速度成线性关系可以进行含量的测定。结论:该方法方便、准确、重复性好,可以作为测定了黄芪苦参中微量的铜(Ⅱ)元素的方法。

[关键词] 双波长; 双指示剂; 铜

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)05-0095-03

Determining Copper in Sophora Flavescens Radix and Astrangali Radix by Double-wavelength Spectrophotometriy

LIU Ja-kun^{1*}, XIN Yun-fan², ZHANG Shu-feng¹

(1. Cangzhou Medical colledge, Cangzhou 061000, China;

2. The University of Iowa, Iowa 522421217, USA)

[Abstract] Objective: To determine copper by the double-wavelength spectrophotometric. Method: A new double-wavelength spectrophotometric method has been developed for the determination of copper. Result: The experimental results shown in the best condition the apparent molar absorptivity of copper was 0.005 0-0.160 mg·L⁻¹. Conclusion: The method is applied to the direct determination of copper in Chinese traditional medicine of with satisfactory results.

[Key words] double-wavelength; spectrophotometriy; copper

金属元素在人体的代谢中起着重要作用,它们有的是酶的活性因子,起着激活酶的作用,有的参与激素的生理作用,促进激素作用的发挥^[1]。随着对中药成分的深入分析,对无机成分尤其是微量元素的研究日益受到人们的重视^[2-3]。因此研究中草药中痕量铜的测定有重要的现实意义。微波消化技术结合了高压消解和微波快速加热两方面的性能,是较为先进的样品预处理技术之一^[4],具有样品分解完全、试剂用量少、溶样速度快、操作简单和污染少等众多优点^[5]。金属元素含量的测定多用原子吸

收光度法^[6-7],仪器价格昂贵,本实验的中药样品采用微波消解技术进行前处理后,再用双波长光度法进行金属痕量组分的测定^[8],使用仪器价格低廉,方法简单,便于普及,为此中药的金属含量测定提供更为完善的方法和依据。

1 仪器与试剂

722 型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);恒温水浴锅。

铜(Ⅱ)标准贮备液 1 g·L⁻¹(北京国家标准物质中心)逐级稀释成工作液,0.05% 亚甲基蓝溶液,0.05% 甲基橙溶液,1 mol·L⁻¹ 的柠檬酸,0.5 mol·L⁻¹ 的溴酸钾,1.0×10⁻³ mol·L⁻¹ 的邻二氮菲溶液;市售黄芪、苦参等草药样品。所用试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

2 方法

在 25 mL 比色管中,依次加入 1.0 mL 柠檬酸,

[收稿日期] 20110908(012)
[基金项目] 沧州市科学技术研究与发展指导计划课题
[通讯作者] * 刘嘉坤, 硕士, 从事中药化学成分分析, Tel: 15832793737, E-mail: kunliu1980@yahoo.com.cn

1.0 mL 亚甲基蓝溶液和甲基橙溶液,2.0 mL 溴酸钾,1.0 mL 邻二氮菲溶液,在一支比色管中加入一定量的铜(Ⅱ)标准溶液,另一只不加,用水稀释至刻度,摇匀。同时置于 100 ℃ 恒温水浴中,反应 10 min 后,迅速取出流水冷却 5 min,用 1 cm 比色皿,以水为参比,在波长 450 nm 和 650 nm 处,分别测量非催化体系的吸光度(A_{450_0} , A_{650_0})和催化体系的吸光度(A_{450} , A_{650}),分别计算 $\Delta A_{450} = A_{450_0} - A_{450}$, $\Delta A_{650} = A_{650_0} - A_{650}$, $\Delta A = \Delta A_{450} + \Delta A_{650}$ 。

3 测试原理

在两种指示剂体系中,测定波长分别为 450, 650 nm,两处吸光度具有加和性,分别测量两波长处非催化体系的吸光度(A_{450_0} , A_{650_0})和催化体系的吸光度(A_{450} , A_{650}),分别计算 $\Delta A_{450} = A_{450_0} - A_{450}$, $\Delta A_{650} = A_{650_0} - A_{650}$, $\Delta A = \Delta A_{450} + \Delta A_{650}$ 。

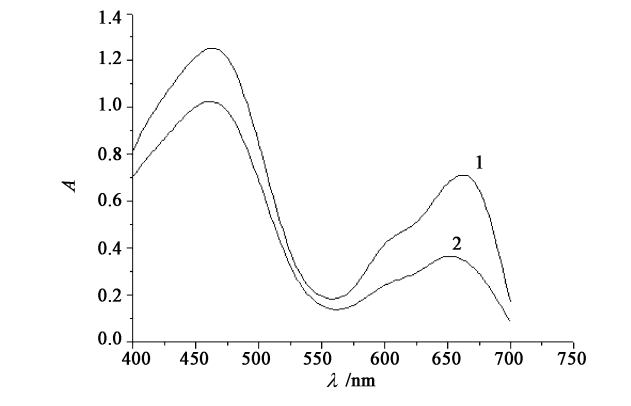
而在 450 nm 处,铁元素的浓度与 ΔA_{450} 通过实验测定,满足一定的关系式: $\Delta A_{450} = k_1 C_{Fe} + b_1$ 。同理,在 650 nm 处, $\Delta A_{650} = k_2 C_{Fe} + b_2$,其中 k_1 , k_2 , b_1 , b_2 均为实验测得的常数。

$\Delta A = \Delta A_{450} + \Delta A_{650} = (k_1 + k_2) C_{Fe} + b_1 + b_2 = k C_{Fe} + b$
说明待测离子 Fe 的浓度与测定波长下的吸光度差值成正比,解方程可得 C_{Fe} 。

4 结果与分析

4.1 测定条件的选择

4.1.1 测定波长的选择 按照实验方法,分别测量催化体系和非催化体系的吸收光谱,见图 1。由图 1 可知,非催化体系在 450,650 nm 处有两个吸收峰,加入铜(Ⅱ)后,吸收光谱形状基本不变,最大吸收波长仍为 450,650 nm,但吸光度降低,说明铜(Ⅱ)有催化作用。故本实验选用测定铜的第一波长为 450 nm,第二波长为 650 nm。



1. 非催化体系;2. 催化体系

图 1 两体系吸收光谱

4.1.2 甲基橙和亚甲基蓝溶液用量的影响 按试

验方法,改变甲基橙和亚甲基蓝溶液用量进行试验。结果表明,亚甲基蓝和甲基橙溶液用量增加,催化反应速度加快,但用量太大,误差加大。综合考虑高灵敏度和宽线性范围,且吸光值不要太大也别太小,本实验的甲基橙溶液和亚甲基蓝溶液的用量均为 1.0 mL。

4.1.3 柠檬酸溶液用量的影响 分别试验了 HCl, H_3PO_4 , Na_2SO_4 , 醋酸-醋酸钠缓冲溶液、柠檬酸等介质对测定的影响。结果表明 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的柠檬酸 1.0 mL 时, ΔA 最大,故本实验选用 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的柠檬酸 1.0 mL。

4.1.4 溴酸钾用量的影响 按实验方法,仅改变溴酸钾的用量进行考察。结果表明催化反应和非催化反应体系的反应速率均随溴酸钾用量的增加而加快,当其用量为 2.0 mL 时, ΔA 最大且稳定,故溴酸钾的用量选用 0.5 mL。

4.1.5 反应温度及时间的影响 按试验方法,改变不同的温度进行考察。结果表明,40 ℃ 以下,催化反应基本不能进行,50 ~ 80 ℃ 时,催化反应速度缓慢,超过 80 ℃,催化反应速度随温度的升高而线性加快。故本实验选用反应温度为 100 ℃,反应时间在 6 ~ 10 min, ΔA 变化很平稳,超过 10 min, ΔA 值明显降低,故采用固定加热时间 10 min。

4.1.6 反应的终止及体系稳定性 体系受热反应后,用流水冷却 5 min 终止反应,在室温下放置 1 h,测定催化和非催化反应体系溶液的吸光度,发现均无显著变化。

4.1.7 邻二氮菲溶液的选择 不加邻二氮菲时,催化反应速度较慢,加入邻二氮菲溶液后,反应速度明显加快。不加铜(Ⅱ)进行试验,结果表明邻二氮菲不具有催化作用,说明邻二氮菲是活化剂,当其加入量为 1.0 mL 时, ΔA 最大。

4.2 共存离子的影响 按照本试验的方法,对一些常见离子进行了干扰实验,在 25 mL 溶液中含 0.25 μg 铜(Ⅱ)的测定,相对误差控制在 $\pm 5\%$ 以内,下列离子的允许量(倍数)为 Na^+ , K^+ ($\geq 2\ 000$, 未做最高限); Cd^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} ; ($\geq 1\ 000$, 未做最高限); Al^{3+} , Br^- , I^- , Ba^{2+} (500); Cd^{2+} , Bi^{2+} (400); Zr^{4+} (300); Ag^+ , Zn^{2+} (200); Mn^{2+} (100); Cr^{3+} (Ⅱ)。本法对常见离子允许量较高,可见本法的选择性较高。当样品中共存离子超过允许量时,需采用适宜的掩蔽或分离方法消除干扰。

4.3 标准曲线和检测限 取 14 只 25 mL 比色管,依次加入 1.0 mL 柠檬酸,1.0 mL 亚甲基蓝溶液和

甲基橙溶液,2.0 mL 溴酸钾,1.0 mL 邻二氮菲溶液,将铜标准贮备液稀释至 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,分别精密量取 0,0.10,0.20,0.50,1.00,2.00,4.00 mL 于其中 7 支比色管中,另 7 支不加,按实验方法分别测定其 ΔA ,结果表明 $\text{Cu}(\text{II})$ 含量 $0.005\text{0}\sim 0.160\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内与 ΔA 呈线性关系,其线性回归方程为 $\Delta A = 0.112\text{0 } C_{\text{Cu}} (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}) + 0.002\text{19}$,相关系数 $r = 0.998\text{7}$ 。方法检出限按 $C_{\text{L}} = 3S_{\text{b}}/K$ 公式计算,其中 S_{b} 为 11 次空白溶液标准差,K 为工作曲线的斜率,得出检出限为 $9.7\times 10^{-9}\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

5 样品的测定

5.1 样品的处理 将苦参、黄芪用自来水冲洗后,用蒸馏水反复洗净,再用纯化水洗涤,放入烘箱内于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘干。粉碎后,分别准确称取 10.0 g 样品于消解罐内,加 2 mL 去离子水将样品充分润湿,然后加入 10 mL 硝酸和 2 mL 过氧化氢,按 $250\text{ W}(3\text{ min})\rightarrow 0\text{ W}(5\text{ min})\rightarrow 250\text{ W}(5\text{ min})\rightarrow 400\text{ W}(5\text{ min})\rightarrow 600\text{ W}(5\text{ min})$ 的消解程序执行样品消化,消解程序执行完毕约 5 min 后取出消解罐,在通风橱中通风冷却 25 min。冷却后用纯化水稀释,转移到的 100 mL 量瓶中定容,同时做空白,等待测定。

5.2 样品测定 准确移取 1 mL 样品溶液和空白溶液于 25 mL 比色管中,按 4 项下方法测定溶液吸光度,测定结果见表 1,2。

5.3 重复性试验 分别准确称取样品 6 份,按 5.1

表 1 苦参中铜的加样分析($n=6$)

样品	测定值 $/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	加入量 μg	测得值 $/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	回收率 $\text{\%}$	平均值 $\text{\%}$	RSD $\text{\%}$
苦参	3.22	1	4.21	98.7	99.62	1.4
	3.26		4.25	99.13		
	3.24		4.22	97.56		
	3.25		4.26	101.02		
	3.22		4.21	99.32		
	3.24		4.26	102.00		

表 2 黄芪中铜的加样分析($n=6$)

样品	测定值 $/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	加入量 μg	测得值 $/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	回收率 $\text{\%}$	平均值 $\text{\%}$	RSD $\text{\%}$
黄芪	7.66	1	8.64	98.01	98.74	0.45
	7.62		8.61	99.18		
	7.68		8.67	98.85		
	7.67		8.66	98.52		
	7.69		8.68	98.68		
	7.66		8.65	99.19		

项下方法进行前处理,再按 4.1 项下方法进行双波长测定,计算平均值为 $3.24\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 5.5%。

5.4 回收率试验 采用加样回收法。分别取上述样品溶液 6 份,分别加入一定量的铜标准工作液,按 4.1 项下进行含量测定,计算回收率,结果见表 1,2。

5.5 对照试验 取上述样品进行原子吸收光谱法测定,计算铜的含量($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)、回收率以及 RSD,两结果进行比较见表 3,由测定结果可知两种分析方法吻合度较好。

表 3 样品中铜的两种测定($n=6$)

检测方法	苦参 $\rho/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	平均回收率/ $\text{\%}$	RSD/ $\text{\%}$	黄芪 $\rho/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	平均回收率/ $\text{\%}$	RSD/ $\text{\%}$
催化光度	3.24	99.62	5.5	7.66	98.74	3.5
原子吸收光谱法	3.30	101.20	1.3	7.54	98.80	1.8

6 结论

本文利用微波消解技术检测中药中微量铜(II)元素含量,建立了在酸性介质中,以邻二氮菲作活化剂,建立了双指示剂催化动力学光度法测定痕量铜的新方法。该方法选择性好,受干扰少,仪器简单,可直接用于测定中药中的痕量铜,为进一步探讨中药中微量元素与疗效之间的关系提供了一个快速简便的测定方法。

[参考文献]

[1] 胡继红,王法林. 浅谈中药微量元素[J]. 吉林中医药, 2009,23(10):46.
[2] 毛莹,袁媛,何希荣,等. 不同元素对丹参毛状根生长及丹参酮类成分积累的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,11(15):6.
[3] 范丽波,孟宪生,赵晶,等. 花蕊石中 9 种无机元素初级形态研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,14

(16):35.
[4] 邹宗福,许仙顺,罗芳诺. 微波消化试样技术在卫生检验中的应用[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(5):309.
[5] 狄之光,宋薇,梁霞,等. 微波消解 ICP-AES 法测定中药中铜铬铅砷的方法研究,现代科学仪器),2004,4:43.
[6] 刘伟,郭兴辉,徐倩. 原子吸收光谱法测定不同产地夏枯草中重金属含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(4):54.
[7] 刘洪旭,邓思珊,马震倩,等. 野生与栽培草珊瑚中矿物元素比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,15(16):78.
[8] 孙登明,王晨露,马伟. 痕量铜双指示剂催化动力学光度法测定[J]. 中国公共卫生,2008,24(7):888.

[责任编辑 蔡仲德]