

光谱分析法测量血液中二价铁离子的含量

徐晓峰¹, 赵福利^{1*}, 王 爽¹, 叶保辉²

1 中山大学物理科学与工程技术学院, 广东 广州 510275

2 中山大学化学与工程技术学院, 广东 广州 510275

摘 要 研究内容采用经典的吸收光谱和光谱分析方法, 应用化学手段, 使用邻菲咯啉作为显色剂获得不同的二价铁离子浓度的溶液, 进行光谱探测, 采用高斯拟合并在线性分析基础上解得二价铁离子的浓度。文章提出的二价铁离子测量方法是在三价铁离子测量方法基础上进行了优化设计, 使得人体活性血红素的测量可以在纯血中直接测量, 比传统的测量方法更加精确, 有助于测量血铁方法的改进, 具有潜在的实用价值。

关键词 吸收光谱; 二价铁离子浓度; 血液

中图分类号: O657.3 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)12-2927-04

引 言

铁是人体必需的微量元素, 是血红蛋白的构成成分, 缺铁可导致多种疾病, 血中铁含量测定在临床诊断和治疗某些疾病中具有重要意义^[1-3]。目前测定铁的主要方法有: $K_2Cr_2O_7$ 法、单波长分光光度法、极谱催化法等。《全国临床检验操作规程》中推荐的亚铁嗪分光光度法测定血清铁^[4], 灵敏度低, 血清用量大, 操作步骤繁, 时间长, 难以推广。同时, Fe^{2+} 相比 Fe^{3+} 对人体的作用更为关键, 因此 Fe^{2+} 含量的准确测量显得尤为重要。本研究在前期研究基础上^[5, 6], 根据有关参考文献^[7, 8], 建立了以邻菲咯啉 (1, 10-phenanthroline, phen) 作为显色剂^[9, 10], 结合光谱分析, 准确测量血液中 Fe^{2+} 的方法。邻菲咯啉是常用的 Fe^{2+} 显色剂, 可用于分光光度法测定 Fe^{2+} 含量, 但是血液中含有大量其他金属离子, 也可被邻菲咯啉显色, 造成吸收光谱特征峰重叠, 而影响测量精度, 尤其是 Fe^{3+} 亦可与 phen 形成淡黄色络合物 $[Fe(phen)_3]^{3+}$ 。且 Fe^{2+} 在空气中不能稳定存在, 在测量操作过程中极易被氧化为 Fe^{3+} , 因此邻菲咯啉分光光度法难以准确测定 Fe^{2+} 含量。本文在文献^[10]提出的在 Fe^{3+} 共存时邻菲咯啉分光光度法测定 Fe^{2+} 的适宜条件的基础上, 在对吸收光谱分析上提出新的方法, 以提高测量精度。

1 原理和方法

根据朗伯吸收定律, 当频率为 ν 、强度为 I_ν 的平行锐线辐射垂直通过吸光物质时, 有

$$I = I_0 e^{-k_\nu L} \quad (1)$$

式中, I 为透过物质后的光强; I_0 为入射光强; k_ν 为吸收系数; L 为光在物质中的传播距离。

吸收曲线有一定展宽, 具有一定的线型, 一般用高斯函数来拟合^[11]。即,

$$k_\nu = M \exp[-b(\nu - \nu_0)^2] \quad (2)$$

式中, ν 为对应的波数, M 为一个常数。吸光度表示为,

$$A = \log \frac{I_0}{I} = 0.4343 k_\nu L \\ = B \exp[-b(\nu - \nu_0)^2] \quad (3)$$

式中 B , b 为常数。可见, 在物质的选择吸收段, 吸光度也是符合高斯函数线形的。

比尔定律给出在低浓度下吸光度与溶液的浓度成正比, 即: $A = aCl$ (a 为一常数), 则:

$$\int_0^\infty k_\nu d\nu = \sqrt{\frac{\pi}{4 \ln 2}} k_{\max} \cdot \Delta\nu = \frac{2.45}{l} A_{\max} \cdot \Delta\nu \\ = \frac{1}{B} \int_0^\infty d\nu = \frac{A \cdot \Delta\nu}{B} = \frac{aCl}{B} \cdot \Delta\nu \quad (4)$$

即:

$$C = mA_{\max} \quad (m \text{ 为一常数}) \quad (5)$$

收稿日期: 2007-08-12, 修订日期: 2007-11-16

基金项目: 国家理科基地班科研项目资助

作者简介: 徐晓峰, 1987年生, 中山大学物理科学与工程技术学院

e-mail: st04xxf@mail2.sysu.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: stszfl@mail.sysu.edu.cn

溶液浓度与在某一选择吸收段的吸收峰值成正比。则可通过对最大吸收波长处的吸收度测量,得到物质的浓度。但当溶液中的含有多种组分,并且多种组分在此均有吸收的时候,如 Fe^{3+} 与 Fe^{2+} 同时存在,含量相近时,无法直接读取单一组分在此处的吸收度。由(4)式有:

$$\int_0^{\infty} A_{\nu} d\nu = A_{\max} \cdot \Delta\nu = aCl \cdot \Delta\nu \quad (6)$$

即:

$$C = \frac{n}{\Delta\nu} \int_0^{\infty} A_{\nu} d\nu \quad (n \text{ 为一常数}) \quad (7)$$

考虑谱线展宽的原因,在低浓度下,分子间的碰撞影响较小时,物质在一波长处的宽度 $\Delta\nu$ 是一定的。若确定物质的某一最大吸收峰对应的波长,及谱线的半高宽,通过对吸收曲线的高斯拟合,则可以测定溶液的浓度。

2 实验技术和流程

2.1 主要试剂与仪器

$\text{Fe}(\text{II})$ 标准溶液,准确称取 0.3511 g $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (分析纯)溶于 30 mL + 4 的盐酸中,蒸馏水滴定至 500 mL,此溶液每毫升含 $\text{Fe}(\text{II})$ 100 μg ,使用液 10 倍稀释。

0.2% 的邻菲咯啉,称取 0.2 g 邻菲咯啉溶于 100 mL 蒸馏水中,加 2 滴盐酸。

乙酸铵缓冲溶液(pH 4.2),称取 250 g $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ 溶于 150 mL 纯水中,再加入 750 mL 冰乙酸 NH_4F 溶液(2 mol

L^{-1}); 1+1 盐酸(6 mol $\cdot \text{L}^{-1}$); UV-3101PC 型吸光光度仪;实验用蒸馏水。

2.2 实验步骤

2.2.1 配制 $\text{Fe}(\text{II})$ 溶液

于 100 mL 容量瓶中加入 8 mL HCl (6 mol $\cdot \text{L}^{-1}$),分别准确加入 0, 2, 4, 6 和 8 mL 的 $\text{Fe}(\text{II})$ 标准溶液(100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)再依次加入 2.0 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液 8.0 mL, 0.2% 的邻菲咯啉溶液 8.0 mL, 乙酸铵缓冲溶液 20.0 mL, 加蒸馏水定容至 100 mL, 混匀, 放置 15 min。

2.2.2 测量溶液吸收光谱

将不同浓度的溶液分别放入石英比色皿中,使用 UV-3101PC 型吸光光度仪,在 350~650 nm 波长范围内测取吸收光谱。

2.2.3 准备血清样本

于 100 mL 容量瓶中加入 8 mL HCl (6 mol $\cdot \text{L}^{-1}$),准确加入 0.3 mL 血清,再依次加入 2.0 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液 8.0 mL, 0.2% 的邻菲咯啉溶液 8.0 mL, 乙酸铵缓冲溶液 20.0 mL, 加蒸馏水定容至 100 mL, 混匀, 放置 15 min。

2.2.4 测量样本吸收光谱

将配制好的溶液放入石英比色皿中,测取吸收光谱。

3 结果与讨论

各浓度标准溶液的显色液的吸收光谱以及对吸收带进行

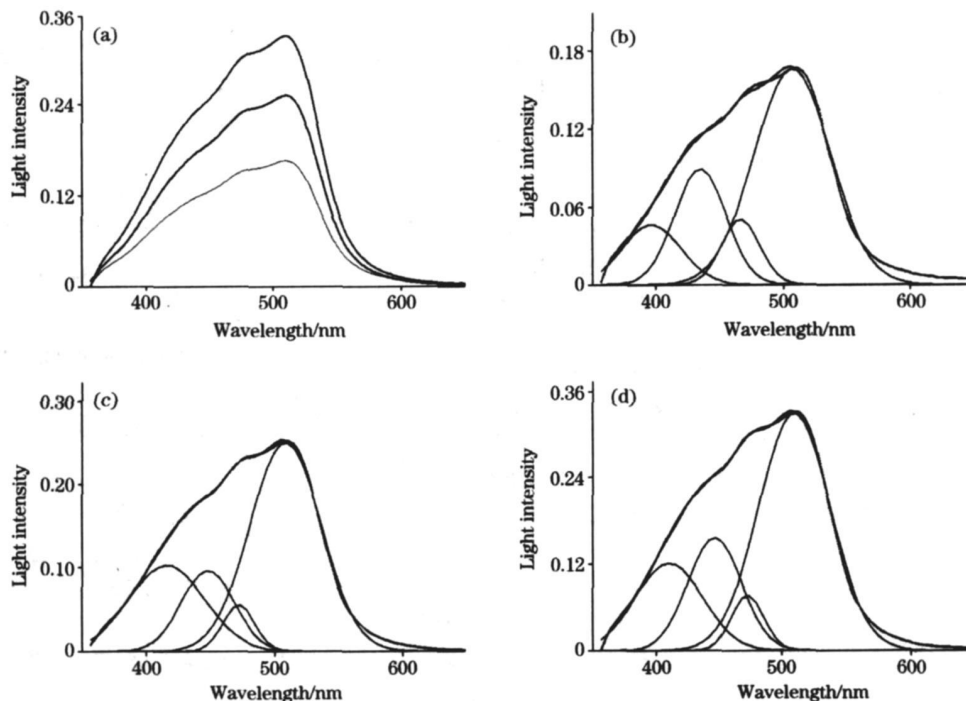


Fig 1 Absorption spectra and the Gaussian fitting curves

(a): Absorption spectra of three types of solutions

(b): The Gaussian fitting curve for absorption spectrum of the 4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ concentration solution

(c): The Gaussian fitting curve for absorption spectrum of the 6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ concentration solution

(d): The Gaussian fitting curve for absorption spectrum of the 8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ concentration solution

4 波长点高斯拟合曲线如图 1 所示。从图中可以看出, 4 个高斯曲线的相对高度随着 Fe^{2+} 含量的不同而变化。在拟合过程中, 寻找最佳的 4 个高斯峰值与半高宽, 而后将其为固定参数进行拟合。拟合数据如表 1 所示。对血清溶液的吸收光谱同样进行高斯拟合, 读取在 508 nm 附近的高斯峰的数据, 通过对曲线面积的线性插值, 如图 2 所示, 求得血清溶液中 Fe^{2+} 离子的含量。

Table 1 Results of Gaussian fitting

Fe(II) 含量 /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	最高峰处波长 / nm	半高宽度 / nm	曲线面积
4	507. 0	60. 1	12. 6
6	508. 9	55. 6	17. 6
8	508. 7	56. 1	23. 2
血清溶液	509. 4	67. 8	3. 3

算得此血清中 Fe^{2+} 的含量为 $0. 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 正常成年人血清中 Fe^{2+} 含量为 $0. 4 \sim 0. 8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 属于此范围内。

4 结 论

本文采用吸收光谱测试方法和基于高斯光谱解叠的光谱分析方法, 对人工利用邻菲咯啉调配的 Fe^{2+} 溶液和血清样本进行分析, 测量样本的 Fe^{2+} 浓度。结果显示血清样本中

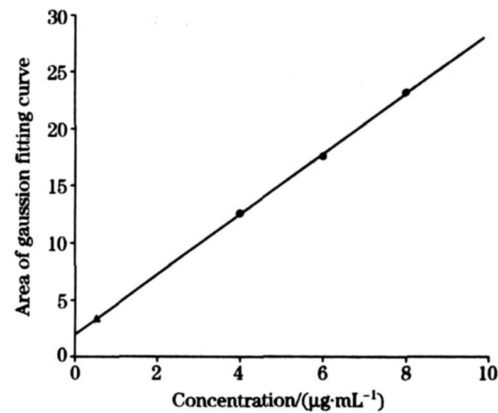


Fig 2 Linear fitting of the concentration and spectrum integral

The circles and triangle correspond to three types of solutions and human blood, respectively

Fe^{2+} 的含量为 $0. 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 结果合理。这种方法是在三价铁离子测量方法基础上优化设计而来, 比常规峰值线性拟合方法更为精确, 同时也可以减少 Fe^{3+} 的干扰。

致谢: 本文是在中山大学物理科学与技术学院普通物理实验基础上进行的扩展创新实验, 衷心感谢理科基地老师的指导, 和相关实验室老师的配合与支持。

参 考 文 献

[1] KONG Xiangrui(孔祥瑞). The Effect of Trace Element in Nutrition, Physiology and Clinical Application and Technology and Technology Press(必需微量元素的营养、生理及临床意义). Hefei: Anhui Science and Technology Press(合肥: 安徽科技出版社), 1982. 194.

[2] JIAO Zhiping(焦治平). Anhui Medical and Pharmaceutical Journal(安徽医药), 2002, 6(1): 42.

[3] HE Bang-ping, WU Qirye, PAN Yar ju, et al(何邦平, 吴秋业, 潘亚菊, 等). Journal of Chinese Clinical Medicine(中华临床医药), 2004, 5(7): 11.

[4] Ministry of Health in People's Republic of China(中华人民共和国卫生部医政司编). National Regulation for Clinic(Second Edition)(全国临床检验操作规程, 第2版). Nanjing: Southeast University Press(南京: 东南大学出版社), 1997. 200.

[5] CAO Jianming, SHEN Cai cheng, LI Min(曹建明, 沈财成, 李敏). China Public Health(中国公共卫生), 2002, 18(11): 1384.

[6] CAO Jian ming, XIAO Hong wu, JIANG Hong-ying, et al(曹建明, 肖洪武, 姜红鹰, 等). Chinese Journal of Medical Laboratory Technology(中华检验医学杂志), 2004, 27(3): 137.

[7] DONG Shuir fu, ZHU Zhi guo, LIU Wei ming, et al(董顺福, 朱志国, 刘伟明, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2001, 21(3): 391.

[8] LI Ren qiang, CHEN Yao, JIANG Feng-yi(李任强, 陈瑶, 江凤仪). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(1): 95.

[9] LI Jir min(李进民). Journal of Datong Vocational College(大同职业技术学院学报), 2004, 18(2): 72.

[10] YAO Qun feng, XU Shun qing, ZHOU Yi kai(姚群峰, 徐顺清, 周宜开). Chinese Journal of Health Laboratory Technology(中国卫生检验杂志), 2000, 10(1): 3.

[11] Michael Hollas J. High Resolution Spectroscopy. John Wiley & Sons, 1982.

Quantitative Measurement of Fe(II) in Human Blood with Spectral Analysis Method

XU Xiao feng¹, ZHAO Fu li^{1*}, WANG Shuang¹, YE Bao hui²

1. School of Physics Science and Engineering Technology, Sun Yat sen U niversity, Guangzhou 510275, China

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract Since the absorption spectra of Fe(II) ions solutions vary with the concentration of Fe(II) ions, the authors tried to establish a direct measurement of active haemachrome in human blood through spectral analysis, and successfully made an experiment on it. The authors prepared Fe(II) ions solutions with various concentrations chemically, using 1,10 phenanthroline (phen) as chromogenic agent. After the absorption spectra of these solutions were analyzed, Gaussian fitting at absorption peaks was performed to them. The linear fitting figure showed that the areas of Gaussian fitting curves correspond to the concentrations of Fe(II) ions. Thus, the concentration of Fe(II) in human blood was figured out in this way, and the result fitted quite well the actual concentration. As an optimized method, this creative idea is more accurate and precise. It will probably contribute to the development of new devices for measuring Fe(II) ions in human blood.

Keywords Absorption spectrum; Concentration of Fe(II); Human Blood

(Received Aug. 12, 2007; accepted Nov. 16, 2007)

* Corresponding author