

共振瑞利散射法检测水环境中痕量锌

李少旦^①

(广西柳州市疾病预防控制中心 广西柳州市八一路 6 号 545001)

摘要 基于在 Tris-HCl 介质中, 研究了 $Zn(SCN)_2^-$ 配合物与人血清白蛋白结合的共振瑞利散射光谱。结果发现, $Zn(SCN)_2^-$ 的加入导致体系共振瑞利散射增强; 考察了各种影响因素和适宜的反应条件; 确定了共振瑞利散射光强度与 Zn^{2+} 的关系, 从而建立了测定痕量 Zn^{2+} 的共振瑞利光散射新方法; 线性范围 0.005—1.0 $\mu g/mL$, 检出限 1.47 ng/mL , 用于环境水样中痕量 Zn^{2+} 的测定, RSD 为 2.01%—3.74%, 加标回收率为 94.75%—101.90%。方法简便、快速、灵敏度高、选择性好。

关键词 锌, 人血清白蛋白, 共振瑞利散射。

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2007)04-0671-04

1 前言

锌是人体必需的微量元素, 其含量的测定是卫生检验的一项日常工作。目前检测的方法主要有原子吸收光谱法^[1]、分光光度法^[2]、电化学法^[3]等。

人血清白蛋白(HSA) 内含色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸三种芳香族氨基酸生色基团, 三者荧光强度之比约为 100 : 9 : 0.5, 此外, 还存在多个可以与不同离子配位的部位或基团^[4]。依据 HSA 分子的这些特点, 有文献报道利用荧光、共振光散射技术(RLS) 研究 HSA 与非金属或金属离子的结合机制^[5,6], 从而确定其内源荧光生色基团的局部微环境。本文研究发现在一定条件下, 硫氰酸锌配合物与 HSA 具有强的结合作用, 导致体系共振光散射显著增强, 且与 Zn^{2+} 量成一定相关关系。据此现象, 建立了题示新方法。该法简便、快速、灵敏度高、选择性好。用于环境水中痕量 Zn^{2+} 测定, 结果满意。

2 实验部分

2.1 主要仪器与试剂

970CRT 荧光分光光度计(上海三科仪器有限公司), WFX-130 原子吸收分光光度计(北京瑞利分析仪器公司), AB204-S 电子分析天平(德国梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.0 × 10⁻⁴ mol/L HSA 工作溶液(美国 Sigma 公司), 用前新配; ZnCl₂ 储备液: 100 $\mu g/mL$, 将锌粒(纯度 > 99.99%) 溶于 0.10 mol/L HCl 配制而成, 用前 10 倍稀释; pH3.0 Tris-HCl 缓冲溶液; 2.0 mol/L KSCN、0.10 mol/L NaCl、1.0% 聚乙烯醇(PVA), 均为分析纯; 实验用水为双蒸水。

2.2 实验方法

取 10 mL 比色管, 加适量 ZnCl₂ 溶液、1.0 mL KSCN 溶液、0.1 mL PVA 溶液、0.5 mL NaCl 溶

① 联系人, 电话: (0772) 2837761; E-mail: lsdy@126.com

作者简介: 李少旦(1975—), 男, 湖南省邵阳市洞口县人, 硕士, 主要从事有害物质检测方法及分子机理的光谱学研究工作。

收稿日期: 2007-04-05; 接受日期: 2007-04-25

液、1.0 mL HSA 溶液,以 Tris-HCl 缓冲液定容至刻度。5℃下反应 20 min。以 $\lambda_{ex} = \lambda_{em}$ 在 200—800 nm 范围内进行扫描;在 600 nm 波长处测定瑞利光散射强度,同时做空白试验。

3 结果与讨论

3.1 共振瑞利散射光谱特性

按照实验方法,加入不同量的 Zn^{2+} 溶液后进行同步扫描,结果见图 1。由图可知加入 $Zn(SCN)_4^{2-}$ 后体系的光散射信号显著增强,以 600 nm 处增强最为明显,因为在实验条件下带正电的 HSA 分子通过静电吸附作用与 $Zn(SCN)_4^{2-}$ 形成三元离子缔合物,最终离子缔合物的聚集导致体系光散射信号增强。故本次实验选择测定波长为 $\lambda_{ex} = \lambda_{em} = 600$ nm。

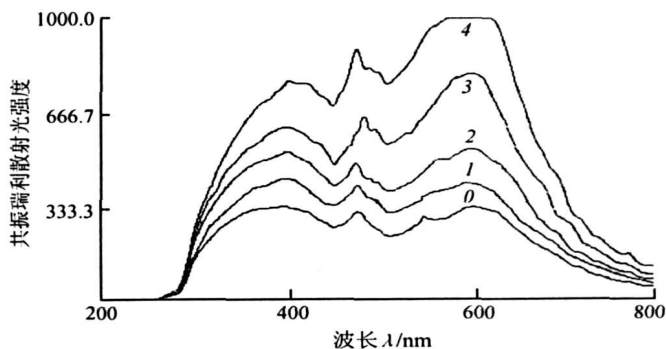


图 1 $Zn(SCN)_4^{2-}$ -HSA 体系光散射同步扫描光谱图
0—4—— Zn^{2+} 含量: 0.0、0.2、0.5、0.8、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.2 pH 值的影响

pH 值低于等电点时, HSA 带正电荷,有利与 $Zn(SCN)_4^{2-}$ 吸附结合。实验中分别配制 pH=1.0、2.0、3.0、4.0、5.00 的 Tris-HCl 缓冲溶液,按实验方法操作,测定体系 I_{RLS} 随 pH 值的变化,结果见图 2,可知在 pH 3.0 时 ΔI 最大,因为 $\text{pH} < 5.0$ 时,有利于 HSA 分子与 $Zn(SCN)_4^{2-}$ 反应的进行,表现为 pH 3.0—5.0 时 ΔI 随酸度的增加逐渐增大;酸度过高, HSA 分子三级结构破坏, HSA 分子自身的堆积导致空白本底增大,从而抵消了 HSA 与 $Zn(SCN)_4^{2-}$ 结合产生的增强信号,表现为 pH 1.0—3.0 时 ΔI 随酸度的增加逐渐减弱。因此,实验中选择 pH=3.0。

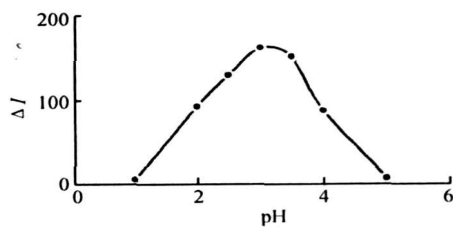


图 2 酸度对体系 ΔI 的影响

3.3 反应温度及时间的影响

本文在 0—40℃ 范围内进行反应温度试验,结果表明:在 5℃ 时体系 ΔI 值最大,因为当温度大于 40℃ 时 HSA 变性,低于 5℃ 时 HSA 开始凝固沉降;反应时间试验结果显示:在 0—20 min 之间 ΔI 随反应时间的延长而迅速增大,当反应时间达到 20 min 时 ΔI 达最大且长时间(2.5 h)内稳定不变。故本次实验选择反应温度为 5℃,反应时间为 20 min。

3.4 离子强度的影响

在前述实验条件下,按 2.2 操作,改变 NaCl 溶液用量,测定体系 ΔI 。由图 3 结果显示,一定量的 NaCl 溶液有利于体系稳定,但 NaCl 溶液用量超过 0.5 mL 时 ΔI 反而降低,因为少量 NaCl 溶液,使 Cl^- 在水相与蛋白相间重新分配,破坏了 HSA 分子表面水化膜,加快了 $Zn(SCN)_4^{2-}$ 与 HSA 静电吸附反应速度,也使 HSA 分子暴露更多的结合位点,有利于离子缔合物生成总量的增加,导致共振 Rayleigh 光散射增强,但当其用量超过 0.5 mL 时,离子强度较大,共存离子对 HSA 和 $Zn(SCN)_4^{2-}$ 的屏蔽作用

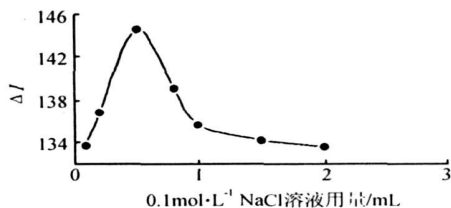


图 3 NaCl 用量对体系 ΔI 的影响

居主导地位,阻碍了 HSA 和 $Zn(SCN)_4^{2-}$ 的结合而使 ΔI 降低。

3.5 聚乙烯醇用量的影响

改变 PVA 的用量,按 2.2 操作,测定体系 ΔI 。结果表明 PVA 的加入不影响共振散射波长;其用量实验表明:加入 0.1 mL PVA 时,体系稳定时间和 ΔI_{RLS} 增大的效果最佳,故本次实验选择 PVA 的加入体积数为 0.1 mL。

3.6 校准曲线与检出限

在最佳实验条件的基础上,按实验方法加入不同量的 Zn^{2+} 标准溶液进行实验,绘制 $\Delta I-C_{Zn(II)}$ 校准曲线。结果表明,质量浓度在 0.005—1.0 $\mu g/mL$ 范围内呈良好线性关系,多次实验后取平均值,得线性回归方程为: $\Delta I = 5.17 + 311.27 C_{Zn(II)}$, 相关系数为 0.9991。同时测定 11 批试剂空白,以 $3S_b/K$ 计算该方法的检出限为 1.47 ng/mL 。

3.7 共存离子的影响

对于含 Zn^{2+} 0.3 $\mu g/mL$ 的测定体系,当测定浓度误差 $\leq \pm 5\%$ 时,各种共存离子允许量(以质量浓度比计)分别为: Na^+ 、 K^+ 、 PO_4^{3-} 、 Cl^- 2000 倍; Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Ba^{2+} 、 SO_4^{2-} 500 倍; Cr^{3+} 、 MnO_4^- 、 NH_4^+ 、 I^- 20 倍; Ni^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ag^+ 、 Fe^{3+} 、 NO_3^- 10 倍。

3.8 样品分析

取三种环境水样,同时做加标回收率试验,分别以题示方法和火焰原子吸收法(AAS)测定,结果见表 1。

表 1 水样测定结果

($n=5$)

水样	题示方法($\mu g/mL$)	RSD (%)	加标回收率 (%)	AAS ($\mu g/mL$)
井水	0.02	3.74	97.20	0.04
池塘水	0.13	2.01	94.75	0.13
湖水	0.08	3.15	101.90	0.06

参考文献

- [1] 郭亚东,陈克嶙.火焰原子吸收光谱法测定生物样品中锌、铜和锰[J].光谱实验室,2006,23(3):463—464.
- [2] 庾澍,杨雯雁,柳畅先.酶催化动力学光度法测定锌[J].化学研究与应用,2006,18(7):884—885.
- [3] 李新华,张丽霞,张炳芬.聚乙烯醇增敏铋膜阳极溶出伏安法直接测定蜂蜜中锌[J].分析测试学报,2006,25(3):95—97.
- [4] Liu S P, Liu Q, Liu Z F *et al.* Resonance Rayleigh Scattering of Chromium(IV)-Iodine-Basic Triphenylmethane Dye Systems and their Analytical Application[J]. *Anal. Chim. Acta*, 1999, 399: 353—361.
- [5] 梁宏,沈星灿,蒋治良等.共振 Rayleigh 散射研究 F 与人血清白蛋白的结合平衡[J].中国科学,2000,30(5):460—466.
- [6] 梁宏,邢本刚,吴庆轩等. Cu(II) 与人血清白蛋白作用的荧光光谱研究[J].化学学报,1999,5(7):161—165.

Determination of Zn in Environmental Water by Resonance Rayleigh Light-Scattering Method

Li Shao-Dan

(Guangxi Lüzhou Center for Disease Prevention and Control, Lüzhou, Guangxi 545001, P. R. China)

Abstract Resonance Rayleigh light-scattering spectra(RLS) of $Zn(SCN)_4^{2-}$ with human serum albumin(HSA) was studied in tris-HCl medium. The RLS of HSA was greatly enhanced by $Zn(SCN)_4^{2-}$ resonance light-scattering peak. The affecting factors and the optimum conditions of the re-

action were investigated. A new method based on the relationship of the intensity of resonance light-scattering to the concentration of Zn^{2+} in water sample was established. The detection limit and the linear range for Zn^{2+} were 0.005—1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 1.47 ng/mL , respectively. The method was used to determine Zn^{2+} in the environmental water sample with satisfactory results. Relative standard deviation is 2.01%—3.74% with the recovery of 94.75%—101.90%. This method can be operated conveniently at ambient temperature with high sensitivity and good selectivity.

Key words Zn, Human Serum Albumin, Resonance Rayleigh Light-Scattering Spectra.

北京天科邮票展览馆(邮票上科学家展览馆) 章 程

北京天科邮票展览馆(邮票上科学家展览馆) 是科普类别的公益性个人独资企业。展品是古今世界各国发行有关天才科学家或他们的创造文明的纪念邮票(复印件) 及其说明, 共有 529 件(2007-01-25)。这些科学家, 一般是学科创始人、带头人、奠基人、发明家和诺贝尔奖金获得者(共 190 人)。选择时不论其年龄、性别、肤色、职业、贵贱、党派、宗教、信仰、国籍和有何罪过等。

1 前言

馆长夫妇都是科技工作者, 一生从事科学研究和科技期刊编辑出版工作, 热爱科学。退休后, 想尽一点余力, 宣传、传播、倡导科学精神, 靠省吃俭用的一点积蓄, 创办了这个简陋的展览馆。

馆长是中国科学院《光谱实验室》期刊主编, 编审(教授), 1982 年获国家三等发明奖, 2001 年退休。展品的主要来源是馆长的著作[《邮票上的光谱学和化学史》(科学出版社 1991 年出版)、《邮票上的化学、光学和光谱学史》(《光谱实验室》2006 年第 1 期, 科学出版社 2006 年出版)]、秦克诚教授的著作《邮票上的物理学史》(清华大学出版社 2005 年出版)、美国阿西摩夫的著作《古今科技名人辞典》, 卞毓麟等译(科学出版社, 1988 年出版) 和《邮票上的科学家——佼佼者之路》(《光谱实验室》2007 年第 1 期, 科学出版社 2007 年出版) 等。

2 宗旨

本馆的宗旨是普及科学知识、倡导科学方法、传播科学思想、回顾历史经验、弘扬科学精神。

3 任务

1) 介绍和总结邮票上的科学家创造发明和技术革新的成功经验和有关教训, 为当今科技人员和大中专学生、教师提供借鉴。资料来源忠实于原著, 允许不同的观点。

2) 介绍科学发明创造的获得是艰苦求索的结晶, 只有那些在崎岖小路的攀登, 不畏劳苦的人才有希望到达光辉的顶点。

3) 努力造就社会“尊重知识, 尊重劳动, 尊重人才, 尊重创造”的风气。

4 组织

本馆由展览室、联络室和编辑部等 3 部分组成。各设工作人员 1 名, 编辑部主任由馆长兼任, 展览室讲解员兼管日常事务。联络室负责对外联系, 发送门票兼管防火安全。编辑部负责收集和编辑图片和文字资料。

5 活动

1) 本馆开设实行 1—3 日前电话预约制度, 参观者的文化程度暂定为高中(含) 以上, 1 个人也接待。

2) 本馆免费开放。

3) 本馆不从事盈利性经营活动。

6 经费

1) 馆长在北京市延庆县刘斌堡乡刘斌堡村的 4600 平方米的土地(46 年使用权)、830 平方米的房产、家具、展牌、资料和设备等为本馆的不动产。

2) 馆长在银行的 10 万元个人存款, 为本馆的流动资金和注册资金。

3) 馆长的退休金和友好人士的捐赠是本馆收入的主要来源。

4) 本馆资产和收入只可用于本馆宗旨所规定的范围。

7 终止

当本馆无法维持正常工作时, 得自行解散, 由馆长或其继承人向法院申请破产, 先行清算, 然后向登记机关办理注销手续。