

# 导数光谱法测定 苯并二氮杂草类

[西班牙] Domingo, Martínez and Ma. Paz. Giménez

姜兆林 译 吴维蓉 校

## 引言

导数光谱法是一种较新的现代化技术。它在解决一般分光光度法不能解决的特殊问题中具有许多优点。它能解决那些一般分光光度法定量测定有困难或者根本不可能解决的问题。

所谓导数光谱是在所测波长区间内用图形表示的微商,  $dA/d\lambda$  为一阶导数,  $d^2A/d\lambda^2$  为二阶导数 ( $A$  为吸收值,  $\lambda$  为波长)。高阶导数对一般分析用处不大。只要在分光光度计的输出端和记录仪的输入端之间加一个电子微分装置, 就很容易地将标准记录分光光度计应用于导数光谱法。

二阶导数光谱比一阶导数光谱更灵敏, 能够提供更为详细的信息。原光谱图中的拐点在一阶导数中显然是极大值或极小值。而最大吸收将变成所谓的零点交叉。在二阶导数光谱中, 原光谱图中的拐点为极大值, 而最大吸收则变成极小值 (图 1)。由于求导处理, 一阶导数的零点交叉位置与原光谱图的最大吸收位置相比, 有轻微的移动, 但这并不影响导数光谱的定性和定量。

对于有吸收的物质, 其吸收波长的位置和极大值、极小值的关系体现着该物质的重要特性, 至于定量测定, 只有极值与其有关。如果二阶导数光谱给出几个极值, 则需要选择在纵坐标具有最大距离的极大值与其相邻的极小值。关于值的计算, 可根据需要采取几种方法。

定量测定中有两种方法特别值得注意。一种是测量具有该物质特征的极大值和相邻极小值之间的距离。另一种方法是画出两个相邻极大值的切线, 然后测量平行于纵坐标的位于两个极大值之间的极小值与切线的距离。这些值可以转化为浓度而后与标样相比较。

导数光谱法的优点很多。我们可以列举对分析特别重要的一些优点。

(a) 首先可以精确计算那些因谱带宽而只能通过粗略计算的一般光谱的最大吸收位置。一阶导数告诉我们最大吸收的准确位置是在零点与其曲线的交叉点。而一般光谱的最大吸收位置则与二阶导数曲线极小值恰好重合。

(b) 导数光谱特别是二阶导数光谱给我们提供了一个很好的解谱方法。因为一般光谱图中的每一个拐点在二阶导数光谱中对应为一个极大值, 而在一般光谱图中每一个极大值对

应为二阶导数光谱的一个极小值。

(c) 导数光谱的一个重要应用是用来定量测定有混浊物存在时具有吸收的可溶性物质。在一般光谱中,混浊物存在时对测定有干扰。而在一阶导数和二阶导数光谱中则无任何影响。因此当有混浊物存在时,由混浊物存在引起的背景吸收可被消除。然而混浊物只能允许在一定的极限内存在(散射光效应)。

(d) 导数光谱法最广泛的应用是可定量测定两个或两个以上的组分。在一般光谱中,其中一个组分较窄的吸收峰被另一个组分的较宽的吸收峰部分掩盖。在一定条件下,两个或更多个组分混合的一阶导数和二阶导数光谱可使我们清楚地分辨出不同的组分,并能进行定量测定,其误差很小,甚至可以忽略不计(图2)。

在这方面,我们已经利用导数光谱法定量测定了中毒案件中经常遇见的苯并二氮杂草类药物。

本文的目的是为了在毒物学中利用导数光谱法进行生物体液中苯并二氮杂草类药物的常规测定。正如前所述,它比一般分光光度法更为优越。

## 实 验

### 材料与方 法

取纯的安定、利眠宁、硝基安定和氯基安定,用0.1N硫酸稀释成1~10mg/l的标准溶液。它们的一般光谱和二阶导数光谱见图3。

所有的谱图都是用带有电子微分装置的Perkin—Elmer 200型紫外—可见分光光度计进行测定的。

不同苯并二氮杂草类标准溶液(mg/l)的浓度[C],和与其相应的二阶导数光谱中相邻极大值和极小值之间的吸收差值[D]归纳于表一。

表一: 苯并二氮杂草类浓度mg/l与相对应的最大吸收差值

| 安 定  |       | 氯 基 安 定 |       | 利 眠 宁 |       | 硝 基 安 定 |       |
|------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|
| C    | D     | C       | D     | C     | D     | C       | D     |
| 8.28 | 0.632 | 7.98    | 0.512 | 10.00 | 0.520 | 5.00    | 0.234 |
| 6.21 | 0.480 | 5.32    | 0.334 | 7.50  | 0.402 | 3.75    | 0.170 |
| 4.14 | 0.312 | 2.66    | 0.164 | 5.00  | 0.252 | 2.50    | 0.112 |
| 2.07 | 0.156 | 1.06    | 0.064 | 2.50  | 0.126 | 1.25    | 0.058 |

根据这些数据可以作出被测物的校正曲线(图4)

加适量的标准溶液于不含药物的血液中,制成4mg/l和8mg/l的标准样品溶液。

### 样品的制备

给实验动物注射一定剂量的安定,经1小时后,取其血液进行测定。另取几例安定中毒者的体液(血、尿、胃内容)进行测定。

不论是血、尿或胃内容,均用氨水碱化至pH值为10,并且每一个样品均用乙醚萃取两次,每次50ml。合并萃取液,用无水硫酸钠干燥,而后将其通过22mm×300mm含有高度为

4 吋 (压紧的) 活化的弗络里土 (60~100 目) 柱以净化萃取液。在室温下减压蒸发乙醚萃取液, 残留物溶于 5 ml 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 内, 然后进行测定。

### 结 果

测定了对应于二阶导数光谱的极大值与其相邻极小值 (极大值和极小值的波长, 安定为 250nm 和 241nm, 利眠宁为 270 和 254nm, 硝基安定为 290 和 274nm, 氯基安定为 250 和 240nm) 的吸收差值。将这些数值与对应的浓度绘成校正曲线 (图 4)。加入血中的苯并二氮杂草类回收实验结果列于表二。

表二: 加入血中的苯并二氮杂草类的回收实验 (mg/l) \*

| 药 物   | 加 入    | 回 收  |           | 回 收 率 %  |
|-------|--------|------|-----------|----------|
|       |        | 平 均  | 范 围       |          |
| 安 定   | 4<br>8 | 3.85 | 3.60~4.20 | 96<br>99 |
|       |        | 7.93 | 7.55~8.15 |          |
| 氯基安定  | 4<br>8 | 3.60 | 3.20~4.00 | 90<br>94 |
|       |        | 7.55 | 7.20~8.50 |          |
| 硝基安定  | 4<br>8 | 3.90 | 3.60~8.30 | 98<br>99 |
|       |        | 7.94 | 7.60~8.30 |          |
| 利 眠 宁 | 4<br>8 | 3.80 | 3.40~4.10 | 95<br>97 |
|       |        | 7.74 | 7.40~8.10 |          |

\*每一标样各测定 5 次。

从回收实验结果看, 回收率是相当高的。四种典型的苯并二氮杂草类在一天内分析结果的重现性列于表三。

表三: 四种苯并二氮杂草类的日精密度

| 药 物   | 加 入 量<br>(mg/l) | 样 品 数  | 平均测定量<br>(mg/l) | 标 准 偏 差<br>(mg/l) | 变 异 系 数<br>(%) |
|-------|-----------------|--------|-----------------|-------------------|----------------|
| 安 定   | 4<br>8          | 5<br>5 | 3.85            | 0.23              | 6.0            |
|       |                 |        | 7.93            | 0.24              | 3.0            |
| 氯基安定  | 4<br>8          | 5<br>5 | 3.60            | 0.28              | 7.8            |
|       |                 |        | 7.55            | 0.47              | 6.2            |
| 硝基安定  | 4<br>8          | 5<br>5 | 3.90            | 0.23              | 5.9            |
|       |                 |        | 7.94            | 0.22              | 2.8            |
| 利 眠 宁 | 4<br>8          | 5<br>5 | 3.80            | 0.24              | 6.3            |
|       |                 |        | 7.74            | 0.23              | 3.0            |

每种标样各制备 5 ml, 容量可以有些变动, 但是每个标样必须在它被萃取的同一天制备, 以排除由于和血混合引起的变化。表四所列的是在实验动物中所测定的安定的量, 表五列出了在中毒人体中所测得的安定量。

表四:

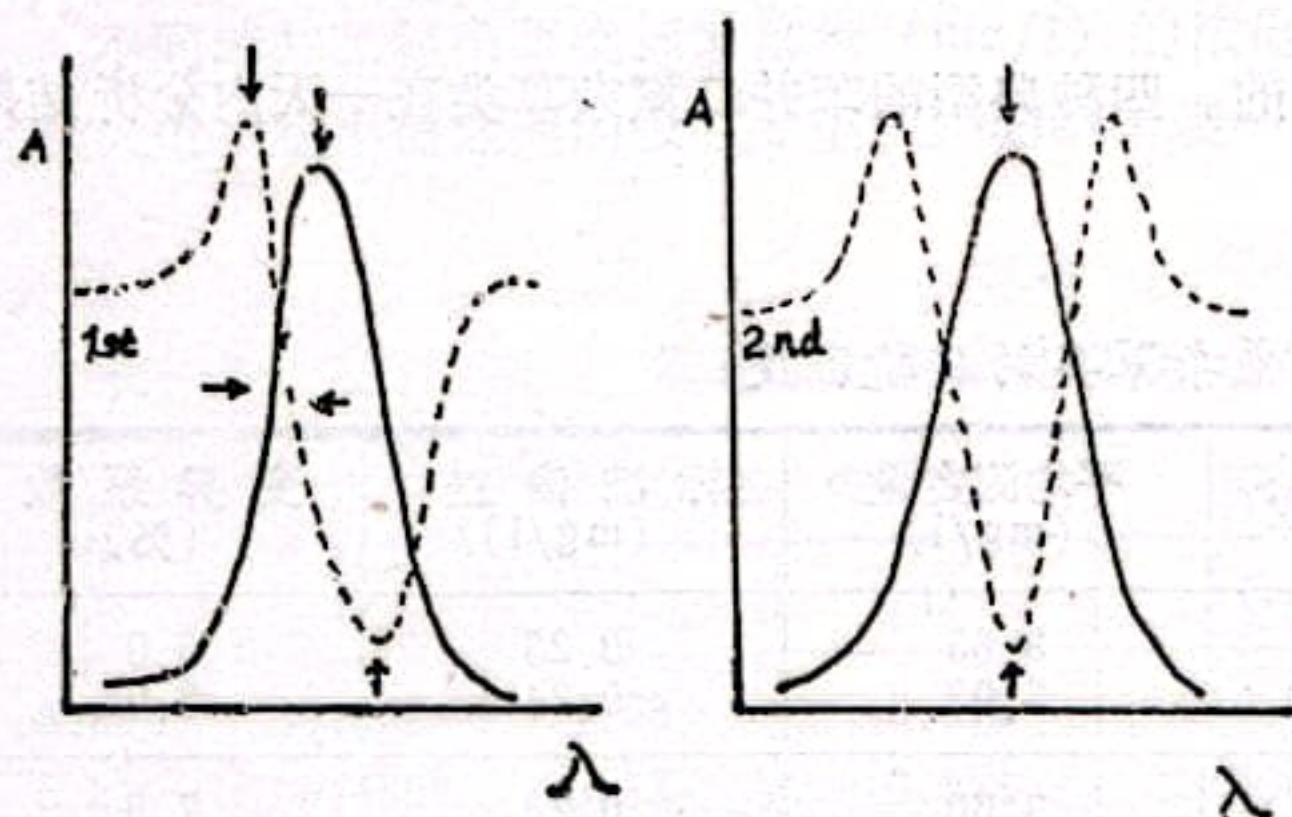
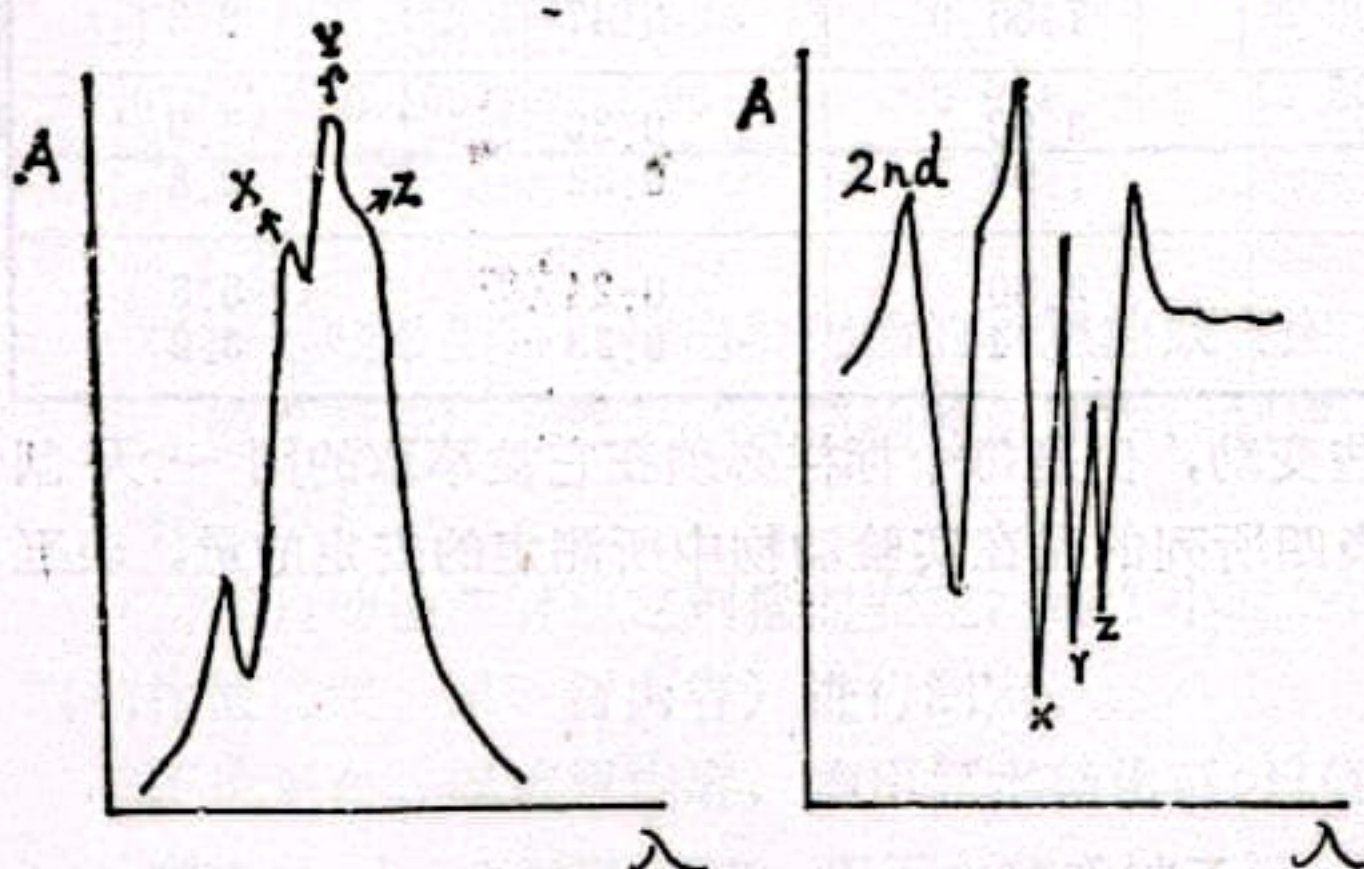
鼠血中安定的浓度

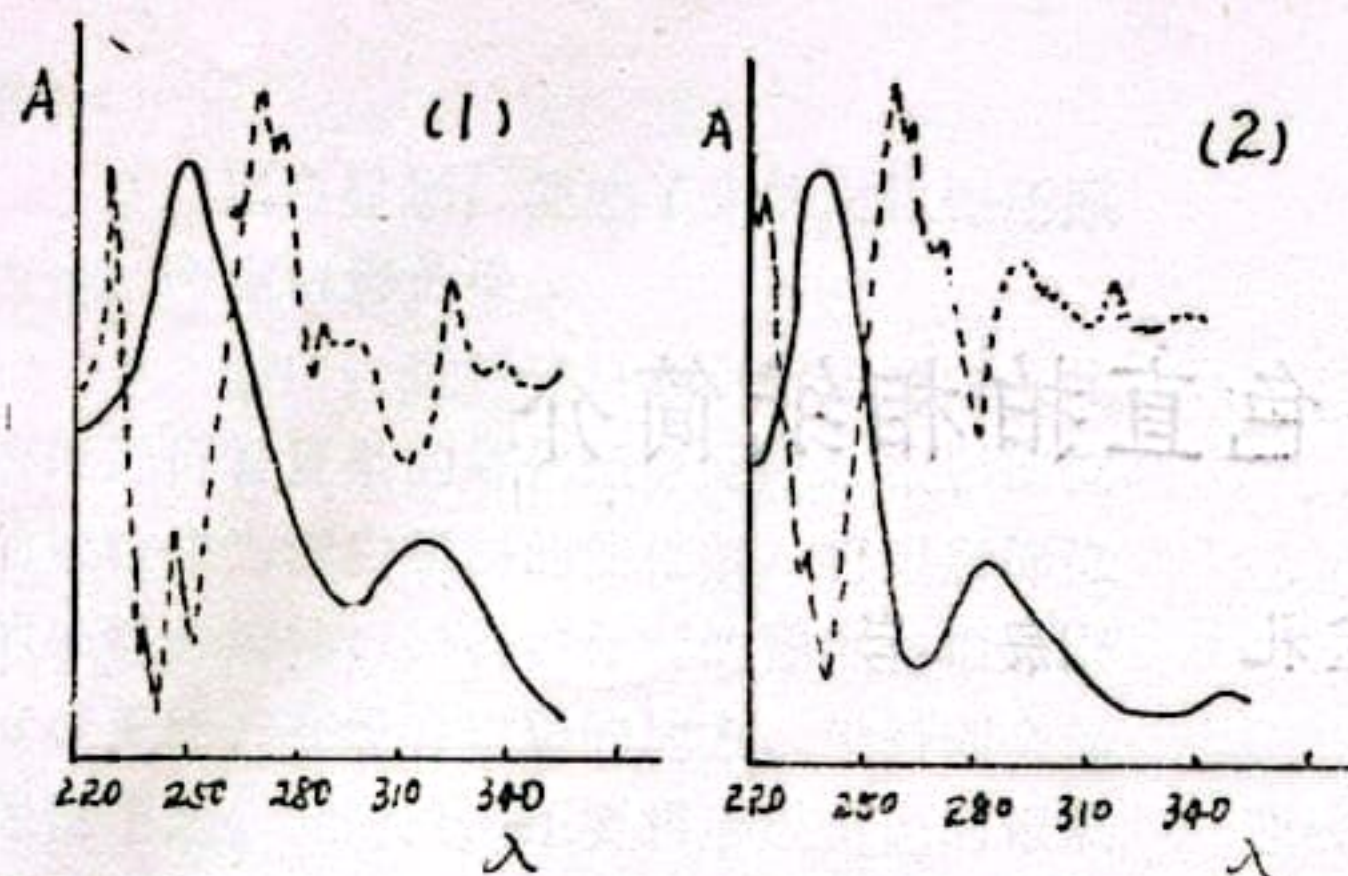
| 编号 | 药量(mg/kg) | 给药方式 | 含量(mg/l) | 编号 | 药量(mg/kg) | 给药方式 | 含量(mg/l) |
|----|-----------|------|----------|----|-----------|------|----------|
| 1  | 50        | 肌注   | 3.75     | 4  | 75        | 肌注   | 9.21     |
| 2  | 50        | "    | 4.08     | 5  | 75        | "    | 8.34     |
| 3  | 50        | "    | 6.07     | 6  | 75        | "    | 10.53    |

表五:

在人中毒案例中所测安定浓度

| 编号 | 性别 | 对象 | 血 (mg/l) | 尿 (mg/l) | 胃内容 (mg/l) |
|----|----|----|----------|----------|------------|
| 1  | 男  | 成人 | 2.48     | 0.22     | 5.70       |
| 2  | 男  | 儿童 | 0.42     | 0.32     | 未测         |
| 3  | 男  | 儿童 | 1.28     | 0.32     | 未测         |
| 4  | 男  | 成人 | 未检出      | 7.60     | "          |
| 5  | 女  | 成人 | 1.92     | 1.84     | 未测         |
| 6  | 女  | 成人 | 未测       | 49.57    | "          |
| 7  | 男  | 成人 | 1.25     | 0.23     | 2.85       |
| 8  | 女  | 成人 | 未测       | 未测       | 122.30     |
| 9  | 男  | 儿童 | 21.02    | "        | 未测         |
| 10 | 男  | 儿童 | 13.15    | "        | "          |
| 11 | 男  | 儿童 | 5.21     | "        | "          |

图1.对称吸收峰的一阶、二阶导数:  
A吸收度;  $\lambda$ : 波长 (nm)图2.两种或两种以上组分的一般光谱和二阶导数光谱,被掩盖的吸收峰在二阶导数光谱中得到清晰的解析:A:吸收度;  $\lambda$ : 波长 (nm)。



(1) 利眠宁  
(2) 氯基安定  
(3) 安定  
(4) 硝基安定  
A 吸收度;  $\lambda$ : 波长 (nm)

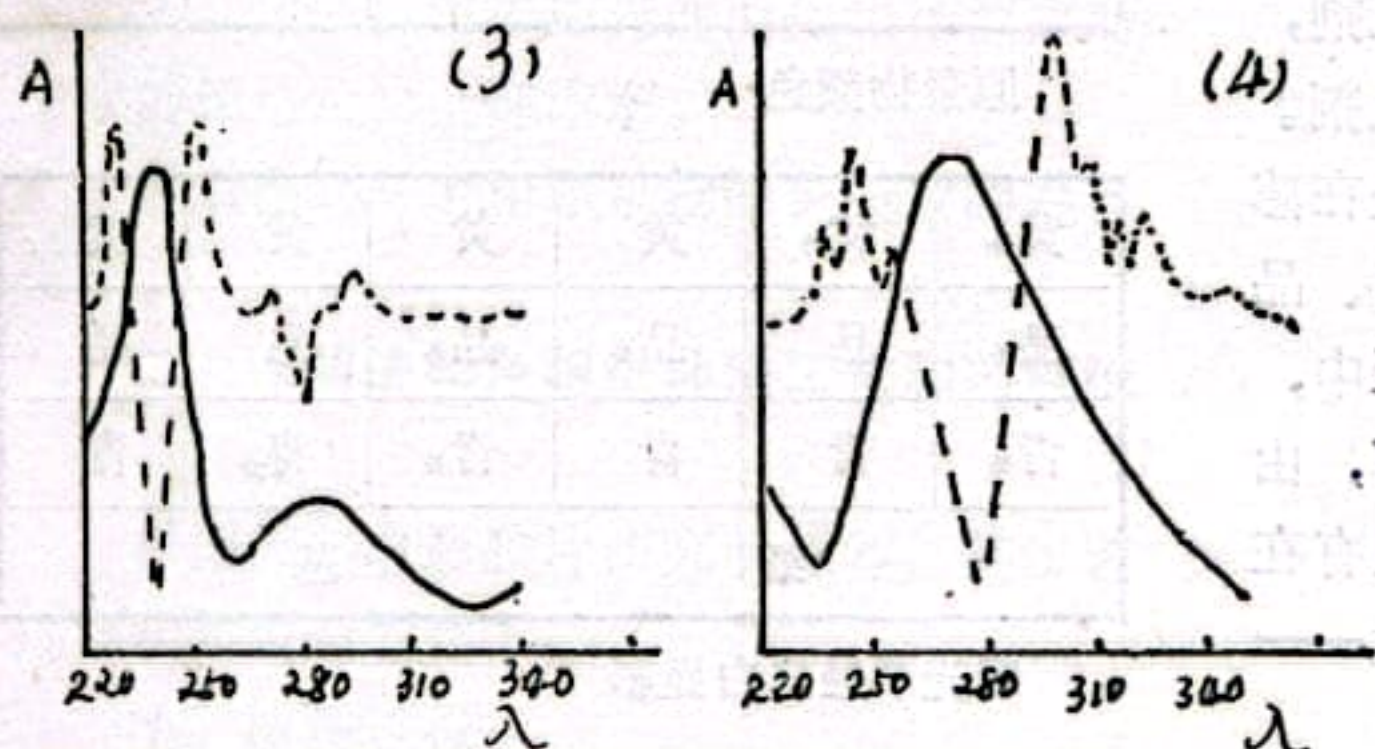
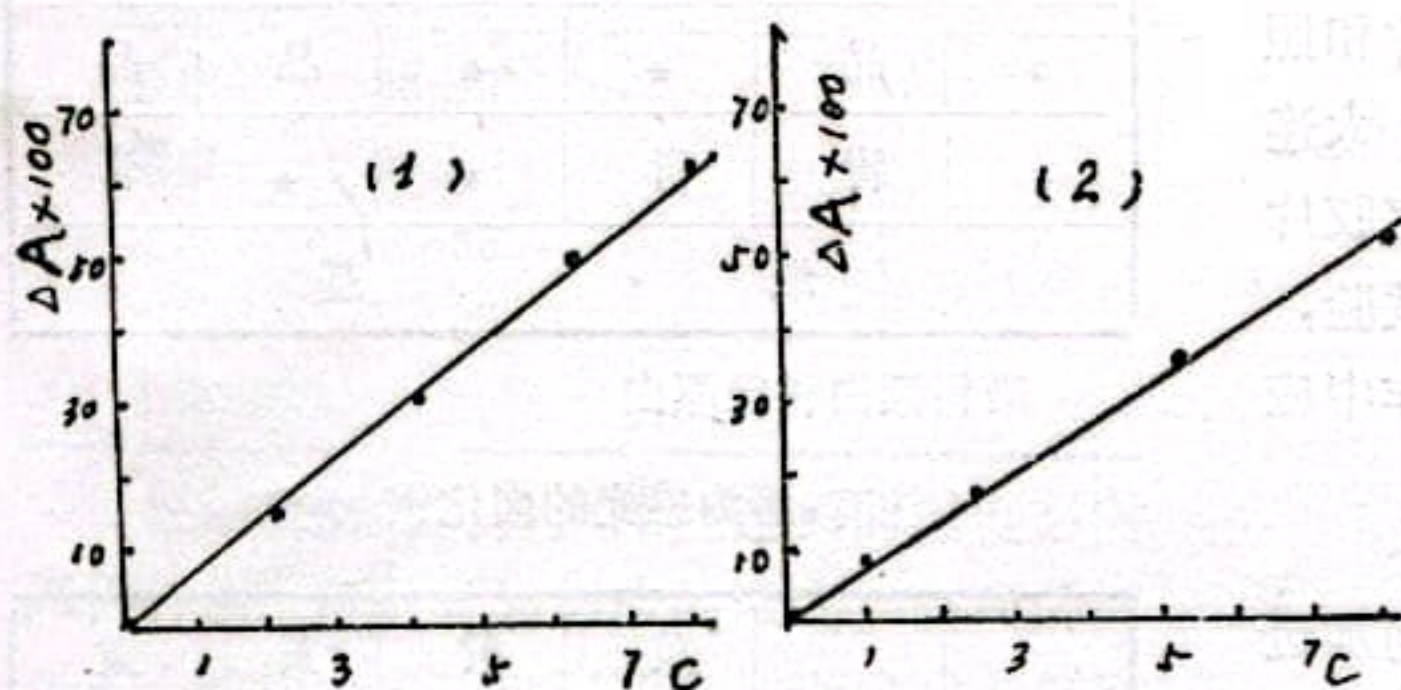


图 3. 四种苯并二氮杂革类的一般光谱和二阶导数光谱。



(1) 安定  
(2) 利眠宁  
(3) 氯基安定  
(4) 硝基安定  
 $\Delta A$ : 吸收差值; C 浓度 (mg/l)

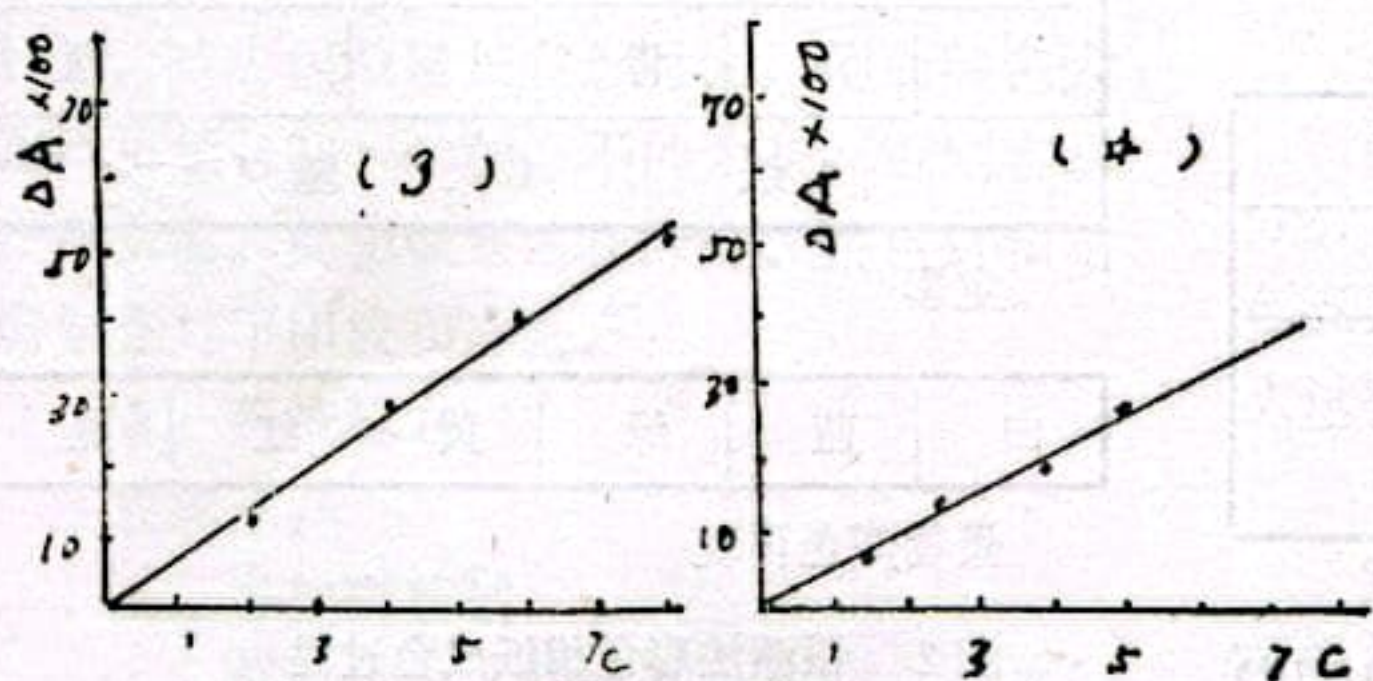


图 4. 四种苯并二氮杂革类的校正曲线。

(摘译自《Journal of Analytical Toxicology》Vol, 5, 1/2, 1981)