

②127-132

第2期
1998年6月无机化学学报
JOURNAL OF INORGANIC CHEMISTRYVol. 14, No. 2
June, 1998

进展与评述

X132 0614.31

色谱在环境/生物样品中铝形态分析中的应用进展

陈刚 陈瑜 毕树平* 邹公伟

(南京大学化学系, 南京 210093)

本文评述了环境与生物样品中铝形态的色谱分析方法进展, 对不同的方法进行了详尽的比较和讨论。

关键词: 色谱法 铝形态 环境与生物样品

环境样

形态分析 分析

生物样品

0 前言

铝在地壳土壤中约占 8% 左右, 是地球岩石和土壤矿物组成中的丰量元素^[1]。大量研究表明: 过量铝不仅对各类水生生物、植物以及农作物具有剧烈的毒害作用, 而且还会导致人体的中枢神经损伤、骨骼软化以及胃肠道代谢混乱等多种疾病^[2-5]。然而铝的致毒机理至今未能完全搞清, 这是因为铝的毒性并不仅仅取决于总浓度, 而且还与其存在形态密切相关。因此, 直接区分和测定环境/生物样品中各种形态的铝就成为研究铝的环境生态效应的关键。

铝在环境和生物样品中的存在形态十分复杂, 它可以与 OH^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 F^- 以及可溶性有机配体 (Org) 相结合而以不同形态存在, 并随着 pH 变化而改变。人们发现, 就水生生物和植物而言, 自由铝离子 Al^{3+} 和水化羟基生成的化合物 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 是致毒形态^[6,7], 多核羟基铝也具有一定毒性^[8], 而铝-氟配合物 Al-F 的毒性就相对较低, 有机铝配合物 Al-Org 则无毒^[9]。因此, 若能将这些形态有效地分离并测定, 对于从根本上解决铝的生态环境污染问题具有重大意义。

铝形态的实际检测十分困难, 主要原因是: (1) 铝不是一个很好的光学和电化学活性元素, 特别当铝以复杂的配合物形式存在时, 其分析难度很大; (2) 采样过程中的人为扰动破坏了原有的化学平衡, 导致铝形态发生变化^[10]。早期对铝形态的检测手段都是间接的^[11]。后来人们又采用了 ^{27}Al NMR^[12,13]、超滤^[14,15]和渗析^[16]等技术来直接分析, 但它们的检测限都较高, 对许多实际样品的分析无能为力^[17]。色谱是分离检测的有力工具, 具有快速、稳定、检测限低等突出优点, 近年来已成为人们进行铝形态分析的首选途径。本文将分经典离子交换技术、高效液相色谱和毛细管电泳等三大部分对近年来色谱方法在环境/生物样品中铝形态分析的应用进展作一系统的归纳和报道。

收稿日期, 1997-10-09。 收修改稿日期, 1997-12-11。

国家自然科学基金、江苏省自然科学基金、污染控制与资源化研究国家重点实验室开放基金。

* 通讯联系人。

第一作者: 陈刚, 男, 24岁, 研究生。

1 经典离子交换技术

经典离子交换技术最早应用于水中铝形态的研究和环境分析^[18~21]。为保证铝与螯合剂达到最好的配位效果,操作条件的控制特别是溶液 pH 值的控制是关键,这是因为铝在水溶液中的存在形态随 pH 值改变而变化。在 pH 值低的溶液中,铝以 Al^{3+} 形态存在,随着 pH 值升高,它开始发生水解。在 pH 值小于 4.5 时,它还可能发生聚合,生成如 $[Al_2OH]^{5+}$ 、 $[Al_2(OH)_2]^{4+}$ 等低聚物;pH 值在 4.5~7 之间时,它会产生沉淀,pH 值再增大,它会因其两性特性而再次溶解^[22]。例如,Berggren, D.^[23]使用 Doulite 225 SRC9 强离子交换树脂对腐殖酸土壤溶液中的铝形态进行了分析。腐殖质与金属离子的配合物流过柱子,而与无机配体结合的金属离子则被树脂保留。他发现分析到的金属离子的形态同操作条件与过程关系很大,离子交换剂的 pH 值应调节到铝-腐殖酸配合物在柱内只有极少量溶解,且流出液的 pH 值应调节到与流入液的 pH 值相等。此外,由于天然的 Al-Org 化合物的离解跟样品与树脂的接触时间有关,因此最佳流速的选择也很重要。

2 高效液相色谱

高效液相色谱(HPLC)可以很好地进行铝形态的分析,它能够测定不同基质中各种形态铝的浓度。常用于铝形态分析的 HPLC 方法有:离子交换色谱、化学键合相色谱和尺寸排阻色谱。

2.1 离子交换色谱(IEC)

离子交换色谱(IEC)是基于电荷转移作用对铝的各种形态进行分离,在形态分析中占有重要的地位。它一般采用柱后衍生方法,即生成试剂在铝的各种形态的配合物被分离后才加入,这样就不会导致分析过程中铝的化学形态的改变。Carnevale 等^[24]在用 8-HQS 柱后衍生分析生理盐水等药品铝形态时发现,铝在这些样品中是以不同的化合物形态存在,可经过酸处理解离,色谱峰的大小与铝的形态有关,草酸铝和氟化铝等形态对荧光反应无影响,表明这些形态的铝离子已完全被 8-HQS 去偶化。而柠檬酸铝配合物能减小荧光反应,说明这些化合物很稳定,不易被 8-HQS 取代而解配。在葡萄糖和生理盐水样品中,经过酸处理后峰增大,表明此时样品中铝是以稳定配合物形态存在。Jones 等^[25]对自来水中铝含量进行分析时发现:色谱法得出的结果比邻苯二酚紫(PCV)光谱法的结果略低,而 PCV 光谱法测得的是包括氟化物和有机配合物的所有单核态铝。因此,色谱法测出的不是对应所有的单核态铝化合物。

Willett^[26]利用 5 cm 低容量阳离子交换柱 Dionex CG-2 作为分离柱,以 pH 为 3.0 的 0.1 mol/L K_2SO_4 作为洗脱液,成功地实现了土壤中萃取物中“单核态铝”的分离(此处“单核态铝”包括 Al^{3+} 、羟基铝、硫酸铝、草酸铝和氟化铝),PCV 柱后衍生荧光检测得到三个峰,对应于一、二、三正电荷铝的荷电形态,最后一个峰也包括羟基铝与硫酸铝, AlF^{2+} 可被直接检测,但 AlF^{2+} 与一价草酸铝一同流出。由于柠檬酸铝配合物很稳定,PCV 不能使它解离,因而它未被检测出来。Willett 对 Al-F 溶液的分析结果与化学平衡计算相符,对土壤萃取物的分析表明, Al^{3+} 、羟基铝以及 AlF^{2+} 是铝的主要存在形态。这是首次直接检测 AlF^{2+} 与其他有确定形式的单核态铝的报道。

在 IEC 用于形态分析过程中,在接近注射阀处,常在线连接一个金属离子清除器以截获缓

冲液和容器中产生的金属离子。Sutheimer 等^[10]以 Synchronpak Cation CATPC 柱作为清除器,分析柱采用 Synchronpak Cation CAT-15,通过梯度洗脱及 lumgallion 柱后荧光检测,在极低浓度下将水溶液中自由或水合铝离子同有机和无机铝的配合物分开,定量测铝的检测限(DL)为 7×10^{-9} mol/L,线性范围在 0~58 $\mu\text{g/L}$,以往经常遇到的配合物在柱上离解等问题没有观察到。对于柠檬酸铝和氟化铝溶液,不同 pH 值和离子强度下铝形体浓度的测定结果与平衡计算相符合。

目前,IEC 直接用于天然水中铝形态分析的主要问题有:(1)地表水中低浓度强配合的铝有机配合物难以被定量检测;(2)铁的干扰;(3)普通洗脱方式造成分离效果不佳;(4)阳离子交换柱上铝配合物的解离。

对于血清中铝与蛋白质的键合及其形态问题,单靠 IEC 很难解决,往往要参照其它方法的分析结果才能得出结论。Van Langdeghem 等^[27]采用基于硅胶 ODS 柱作为残余金属离子在线清除器,TSK-DEAE-5PW 阴离子交换柱作为分析柱,对柱后洗脱液用紫外吸收方法在线检测蛋白质,ET/AAS 离线检测铁和铝元素,定量确定了与铝键合的血清蛋白质及其同不与蛋白质键合的铝的比值,考察了铁转移蛋白 Tf 的饱和作用对其与铝键合的影响,并且首次评估了在临床相关浓度下,铝与铁同蛋白质的键合竞争。这种方法十分灵敏、准确,盐度梯度洗脱造成的干扰通过仔细选择 ET/AAS 仪器条件与基体修饰剂去除,洗脱后铝的回收率为 $100.1 \pm 15.3\%$,蛋白质回收率为 $95\% \sim 105\%$ 。Gonzalez 等^[28]采用了与上述类似的方法,并且结合超滤方法的分析结果,发现 Tf 是正常血清中唯一与铝键合的蛋白质;但在血清中存在药物去铁草氨酸(DFO)时,大部分铝转而与之键合,生成低分子量的 Al-DFO 配合物。当血清中 DFO 浓度为 2 mg/L 时,只有极少部分铝仍保持与 Tf 结合,这个结果对临床应用很有意义。Wrobel 等^[29]采用胶束电泳对类似上述 IEC 过程的柱后馏分进一步分离,并以 UV-VIS 检测,在同 AAS 分析铝的结果对照后证实了 Gonzalez 等的结论。从 Wrobel 等的实验结果来看,Tf 含有血清中 90% 的铝,血清中主要的低分子量铝以柠檬酸铝的形态存在,占血清中铝总量的 $12 \pm 5\%$ 。Wrobel 等人的方法实现了 Al-Tf、Al-DFO 与 Al-citrate 的同时测定。

2.2 反相键合相色谱(RP-HPLC)

在铝等金属离子的键合相色谱分析中,一般采用柱前螯合的方法使其形成显色配合物。这些配合物必须对水相对稳定,并且在流动相中有很大的溶解度。如果以硅胶作为固定相,采用正相色谱,虽然配合物在低介电常数有机溶剂流动相中离解的趋势很小,但硅胶要求有机溶剂绝对无水,条件过于苛刻;而在反相键合相高效液相色谱中,流动相常为不同比例的水/甲醇或水/乙腈等,溶剂便宜,且改变流动相组成和进行梯度洗脱都非常方便。

林建明等^[10]利用梯度洗脱 RP-HPLC 方法,结合 GF/AAS 与 ICP-AES 分析结果,分离测定了茶水中铝等五种金属元素的化学形态。结果表明:茶水中铝等金属元素一部分以无机离子形式存在,另一部分则以有机配合物形式存在。实验发现,当以铝等元素的儿茶素配合物作为标准物质时,HPLC 上的保留时间恰好与茶水中铝等金属元素的有机形态的保留时间一致。由此可推断茶水中铝等元素的有机形态可能主要以黄酮类化合物,特别是儿茶素的配合物形式存在。Meancy 等^[31]比较了 RP-HPLC 法和 AAS 法对土壤和粘土样品中 Al(III)的测定结果,发现 HPLC 测定的结果比 AAS 略低。这是由于 HPLC 结果跟金属离子与柱的键合能力有关,而 Al 与 F、柠檬酸、草酸的键合能力都比 8-HQS 强,从而阻止了 Al 与 8-HQS 在柱上的键合,而 AAS 则都能检测这些形态的化合物,因而 HPLC 的结果较低。

2.2 尺寸排阻色谱(SEC)

在环境和生物样品中,尺寸排阻色谱也已用于铝形态的分析。Keirsse 等^[17]用生物凝胶柱对血清中铝的形态进行研究。用 P10 凝胶柱测定时,有不到 40% 的铝在大分子量部分被洗脱出来,总铝量为 600 $\mu\text{g/L}$,两个小分子量部分被回收。用 P4 凝胶柱时,只有一个大分子量部分和一个小分子量部分被回收,总铝量为 10~110 $\mu\text{g/L}$ 。实验发现,当样品与柱接触时,血清中的铝并没有重新分布,只有外界(如洗脱液等)铝的污染才会改变其分布,带来测定误差。结果表明:血清中的铝都是以 Al-Org 形态存在,而没有“自由铝”(如 Al^{3+} 、 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_4^-$)的形态存在。他们还用 P4 柱检测了尿毒症患者的血清中的结合铝,核算出总铝量为 60~110 $\mu\text{g/L}$ 。

3 毛细管电泳(CE)

毛细管电泳分离金属离子是基于高压电场下各离子形成的配合物在毛细管内电泳淌度不同而实现分离的^[32]。它具有快速、高效、灵敏度高、样品损耗小、分辨率高等优点,特别对于环境与生物样品分析具有相当大的潜力,近年来已被应用于铝形态的分析中。

一般 CE 分离采用间接紫外检测,它利用载体电解质共存离子的紫外吸收作为背景,当带电与共存离子相同的非紫外吸收待测离子取代共存离子并经过光窗时,背景吸收降低,使其被检测,表现在电泳图上则为一系列负峰。Wu 等^[33]用 CE 分析了水溶液中的铝形态,在其背景电解质缓冲液中加入 5×10^{-3} mol/L 咪唑作为紫外吸收剂,5 min 内一次进样,可实现有机铝(Al-Oxalate)和无机铝(Al^{3+} 、 AlF^{2+} 、 AlF_2^+)的良好分辨,其平均 DL 大约为 1.0×10^{-8} mol/L。对于不同配体摩尔比与 pH 值的溶液,各种形态浓度的实验结果与计算值相符。Barger 等^[34]在 Al^{3+} 与其他六种离子的分离测定中,选用麻黄碱作为 UV 吸收共存离子,放弃了 Wu 等采用的咪唑。这是因为麻黄碱淌度与 Al^{3+} 更加匹配,能得到更为尖锐的峰形,实现了 Al^{3+} 与其他离子的彻底分离。实验中 Barger 等还使用了 2-羟基异丁酸(HIBA)作为调节 Al^{3+} 等离子迁移率的弱配合剂。

4 结束语

环境与生物样品中痕量铝的分离及其形态的分析是一个较难的课题。色谱方法则是一种很好的区分铝形态的分析测试手段。在上述几种方法中,经典离子交换技术手续过于繁杂冗长;高效液相色谱能提供许多高分辨率的分析柱,能够快速完成多种金属离子的同时测定,对铝形态的分析具有很大潜力;毛细管电泳则是最有希望的一类方法,与 HPLC 相比,它具有高分辨率、高效率、高分析速度以及高灵敏度等一系列优点,很有可能成为环境与生物样品中痕量铝测定及铝形态分析最重要的方法之一。

致谢:感谢程榕时院士、陈洪渊、金洪钧和杨达源教授以及南京大学分析中心的支持与帮助。

参 考 文 献

- [1] Ochiai, E. ; *Bioinorganic Chemistry, an Introduction*, Allyn and Bacon; Boston, 1997.
- [2] 陈昌杰、刘源、王献仁, 中国科学基金, 1994, 3, 163.
- [3] 金龙珠、朱光美, 环境化学, 1995, 14(1), 90.
- [4] Sposito, G. *The Environmental Chemistry of Aluminum*. Boca Raton, CRC Press Inc, Florida, 1989.
- [5] Lewis, T. E. *Environmental Chemistry and Toxicity of Aluminum*. Michigan LEWIS Publishers Inc, Chelsea. 1989.
- [6] Blamey, F. P. C. ; Edwards, D. G. ; Asher, C. J. *Soil Sci.* , 1989, 130, 197.
- [7] Alva, A. K. ; Edwards, D. G. ; Blamey, F. P. C. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1989, 50, 959.
- [8] Parker, D. R. ; Kinraide, T. B. ; Zelazny, L. W. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1989, 52, 438.
- [9] Cameron, R. ; Ritchie, G. S. P. ; Robson, A. D. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1986, 50, 1231.
- [10] Sutherland, S. H. ; Cabaniss, S. E. *Anal. Chem.* , 1995, 67, 2342.
- [11] Sullivan, T. J. ; Seip, H. M. ; Maniz, I. P. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* , 1988, 20, 61.
- [12] Thomas, F. ; Masion, A. ; Bottero, J. Y. ; Rouiller, J. ; Genevriar, F. ; Boudot, D. *Environ. Sci. Technol.* , 1991, 25, 1553.
- [13] Parker, D. R. ; Bertsh, P. M. *Environ. Sci. Technol.* , 1992, 26, 914.
- [14] Rahman, H. ; Skillen, A. W. ; Channon, S. M. ; Ward, M. K. ; Kerr, D. N. S. *Clm. Chem.* , 1965, 31, 1969.
- [15] Leung, F. Y. ; Hodsmann, A. B. ; Murhed, N. ; Henderson, A. R. *Clin Chem.* , 1985, 31, 20.
- [16] Graf, H. ; Stummvoll, H. K. ; Meisinger, V. *Lancet*, 1982, 1, 46.
- [17] Keirse, H. ; Smeyers-Verbeke, J. ; Verbeeien, D. ; Massart, D. L. *Anal. Chim. Acta.* , 1987, 190, 103.
- [18] Driscoll, C. T. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* , 1994, 16, 27.
- [19] Driscoll, C. T. ; Van Breemen, N. ; Mulder, J. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1985, 49, 437.
- [20] Sullivan, T. J. ; Christophersen, N. ; Muniz, I. P. ; Seip, H. M. ; Sullivan, P. D. *Nature*, 1986, 32, 323.
- [21] Berggren, D. ; Frikesjö, G. *Environ. Toxicol. Chem.* , 1987, 6, 771.
- [22] Greenwood, N. N. ; Earnshaw, A. *Chemistry of the Elements*. Pergamon, 1988, p252.
- [23] Berggren, D. *Inter. J. Environ. Anal. Chem.* , 1989, 35, 1.
- [24] Carnevale, J. ; Jackson, P. E. *J. Chromatogr.* , 1984, 671A, 115.
- [25] Jones, P. ; Ebdon, L. ; Williams, T. *Analyst*, 1988, 113, 641.
- [26] Willett, I. R. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1989, 53, 1385.
- [27] Van Landeghem, G. P. ; D'Haese, P. C. ; Lamberts, L. V. ; De Broe, M. E. *Anal. Chem.* , 1994, 66, 216.
- [28] Gonzalez, E. B. ; Parajon, J. P. ; Alonso, J. I. G. ; Sanz-Medel, A. *J. Anal. At. Spectrom.* , 1989, 4, 175.
- [29] Wrobel, K. ; Gonzalez, E. B. ; Wrobel, K. ; Sanz-Medel, A. *Analyst*, 1995, 120, 809.
- [30] 林建明、杨凡原、王小如、庄峙厦、杨成隆、袁东星、黄本立, 分析实验室, 1994, 13(3), 6.
- [31] Meaney, M. ; Connor, M. ; Breen, C. ; Smyth, M. R. *J. Chromatogr.* , 1988, 440, 241.
- [32] Nakabayashi, Y. ; Nagaoka, K. ; Masnda, Y. ; Shinke, R. *Analyst*, 1989, 114, 1109.
- [33] Wu, N. ; Horvath, W. J. ; Sun, P. ; Huis, C. W. *J. Chromatogr.* , 1993, 635, 307.
- [34] Barger, W. R. ; Mowery, R. L. ; Wyatt, J. R. *J. Chromatogr.* , 1984, 688A, 659.

**ADVANCEMENT OF CHROMATOGRAPHIC METHODS FOR
THE SPECIATION OF ALUMINUM IN ENVIRONMENTAL
AND BIOLOGICAL SAMPLES**

Chen Gang Chen Yu Bi Shuping Zou Gongwei

(Department of Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210093)

A review with 34 references is presented on the advancement of chromatographic methods for the speciation of Aluminum in Environmental and Biological Samples. Different chromatographic methods including Classic Ion Exchange Technique, HPLC and Capillary Electrophoresis are compared and discussed with their most recent development.

Keywords: chromatographic methods speciation of aluminum
environmental and biological samples