

生物科学

改进 Ferrozine 法测定溶液中的 二价铁、三价铁及总铁

刘球英 骆艳娥
(西北大学,西安 710069)

摘要 铁元素是自然界中常见的微量元素之一,其在溶液中存在亚铁离子、三价铁离子两种价态。为了准确地定量测定亚铁、三价铁及总铁的含量,探索出一种改进的菲罗嗪(Ferrozine)法。二价铁和 Ferrozine 反应生成紫色络合物,其在 562 nm 处有最大吸收峰。利用该特点,可以直接测定二价铁含量,以盐酸羟胺为还原剂,将三价铁还原为二价铁后,即可测定总铁含量,进一步计算出三价铁含量。结果表明:该方法能准确测定游离二价铁及总铁,测定结果和 ICP-AES 法的结果吻合,同时三价铁计算结果和黄血盐测定三价铁的结果吻合;并且该方法可用于预测分散在水相的四氧化三铁纳米颗粒的铁含量,与 ICP-AES 法相比,校正系数约为 0.85。因此该方法适用性广,操作简单而经济,结果准确。

关键词 Ferrozine 法 二价铁 三价铁 总铁 测定

中图分类号 Q581; **文献标志码** A

铁元素在自然界中很常见,也是水环境中最活泼的元素之一^[1]。此外,铁元素对人体起着至关重要的作用,比如铁参与氧气运输、参与很多辅酶形成、维持造血功能、增强免疫功能等^[2]。溶液中的铁离子主要以二价铁(Fe^{2+})、三价铁(Fe^{3+})这两种形式存在,为研究铁的生理代谢规律,准确测定其含量至关重要。目前测铁的方法主要有三类。第一,电感耦合等离子体发射光谱,即 ICP-AES。此方法检测限低,精度高;但此法测试费昂贵且只能测总铁离子。第二,原子吸收。此法和 ICP-AES 有着同样的缺点,并且样品前处理比较繁琐。第三,分光光度法,其中菲罗嗪(Ferrozine)^[3,4]和邻菲罗啉(1,10-Phenanthroline monohydrate)^[5,6]应用最普遍,但邻菲罗啉测定法的灵敏度弱于菲罗嗪测定法。

现探索出一种改进的 Ferrozine 法可在微摩尔水平测定溶液中的二价铁、三价铁及总铁,此法简单易行且灵敏度和准确性高。

1 反应原理

在 pH 为 2~9 的范围内,亚铁离子可以和非罗嗪(Ferrozine)反应生成一种稳定的紫色络合物,该络合物在 560 nm 左右有最大吸收峰。测定时,直接将样品和非罗嗪反应,即可测得亚铁离子含量。利

用还原剂将三价铁离子还原为二价铁,即可测定总铁含量,减去还原反应前的亚铁离子含量,即可算出三价铁含量。

2 材料与方法

2.1 试剂

(1)Ferrozine 溶液:浓度为 0.01 mol/L,以浓度为 0.1 mol/L 的醋酸铵作为溶剂;

(2) Fe^{2+} 标准溶液:以 0.01 mol/L 的盐酸作为溶剂,先配置 5 mmol/L 的硫酸亚铁作为母液,再配置 10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ 这 5 个浓度梯度;

(3)盐酸羟胺:浓度为 1.4 mol/L,用浓度为 2 mol/L 的盐酸作为溶剂;

(4)醋酸-醋酸铵缓冲液:配置浓度为 10 mol/L 的醋酸铵溶液,用氨水调 pH 至 9.5。

(5) $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 标准溶液:配置氯化亚铁和三氯化铁混合溶液,将 ICP-AES 测定浓度的溶液(浓度为 51.732 $\mu\text{mol/L}$)作为母液,再配置 41.385 6、31.039 2、20.692 8、10.346 4 $\mu\text{mol/L}$ 这 4 个浓度梯度;

(6)黄血盐溶液:浓度为 5%,以超纯水为溶剂;

(7) Fe^{3+} 标准溶液:以 0.01 mol/L 的盐酸为溶剂,先配置浓度为 17.86 mmol/L 的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 储备液,再配制 1.786、0.893、0.446 5、0.223 25 mmol/L 这 4 个浓度梯度。

2.2 仪器

电感耦合等离子体原子发射光谱仪(法国 JY-

2015年12月3日收到 国家自然科学基金(21176200)资助
第一作者简介:刘球英(1989—),女,湖南娄底人,硕士。研究方向:四氧化三铁纳米颗粒的代谢。E-mail:hgylqy@163.com。

ULTIMR-2型)、酶标仪(美国基因有限公司, Power-Wave XS2)、pH计(METTER TOLEDO, FiveEasy)。

2.3 检测方法

2.3.1 Fe^{2+} 测定方法

- (1) 加入 100 μL Ferrozine 溶液于 48 孔板中;
- (2) 再加入 1 mL 标准溶液或者样品溶液, 显色 30 min 后测定其吸光度值。

2.3.2 总铁离子测定方法

- (1) 加入 100 μL Ferrozine 溶液于 48 孔板;
- (2) 再加入 800 μL 标准溶液或者样品溶液, 测定标曲时以 0.01 mol/L 的盐酸为空白对照, 测定样品时以样品的溶剂为空白对照;
- (3) 往上述混合液中加入 150 μL 盐酸羟胺;
- (4) 加入 50 μL 醋酸-醋酸铵缓冲液, 显色 2 h 后测定吸光度值。

2.3.3 Fe^{3+} 测定方法(黄血盐法)

- (1) 吸取 0.5 mL 的 Fe^{3+} 标准溶液或者样品溶液于 48 孔板中;
- (2) 再加入 0.5 mL 黄血盐, 显色 30 min 后在最大吸收波长处测定其吸光度值。

3 结果与讨论

3.1 反应络合物的最大吸收波长的确定

为了确定亚铁离子和非啉反应后生成紫色络合物的最大吸收峰所对应的波长, 在 500 ~ 700 nm 范围内用酶标仪对其吸光度 OD 值进行了测定, 结果如图 1 所示。此紫色络合物的最大吸收波长为 562 nm, 因此选择 562 nm 作为测定波长。同理测得: 三价铁离子与黄血盐反应生成的蓝色络合物的最大吸收波长为 836 nm, 故选择 836 nm 作为其测定波长, 如图 2 所示。

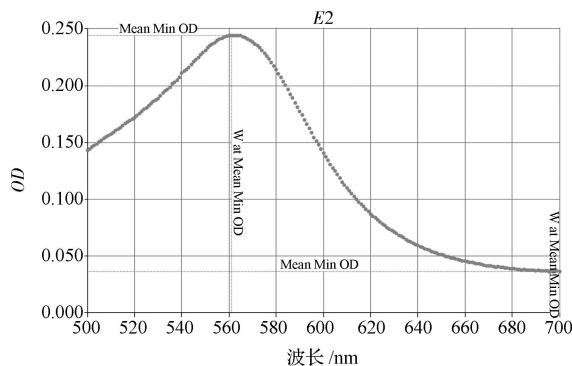


图1 亚铁离子与 Ferrozine 反应生成的紫色络合物的吸收光谱图

Fig. 1 Absorption spectrum of purple complex generated by Fe^{2+} and Ferrozine

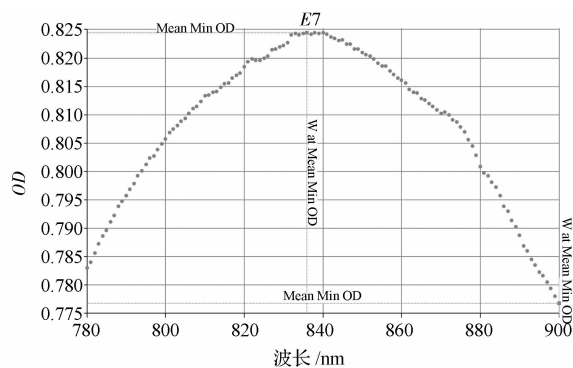


图2 三价铁离子与黄血盐反应生成蓝色络合物的吸收光谱图

Fig. 2 Absorption spectrum of Prussian Blue generated by Fe^{3+} and Ferrocyanide

3.2 Ferrozine 测定亚铁离子、总铁离子及黄血盐测定三价铁离子的标准曲线

如节 2.3 所示的实验步骤, 每条标准曲线平行测定 6 次。如图 3 所示: 亚铁离子测定的标准曲线为 $y = 27.498x$, $R^2 = 0.9984$, 偏差系数 $CV = 2.03\%$, 其中 y 代表在 562 nm 处的 OD 值的 1000 倍, x 代表 Fe^{2+} 的浓度(单位 $\mu\text{mol/L}$); 如图 4 所示: 总铁离子测定的标准曲线为 $y = 22.861x$, $R^2 = 0.9997$, 偏差系数 $CV = 1.98\%$, 其中 y 代表在 562 nm 处的 OD 值的 1000 倍, x 代表总铁离子的浓度(单位 $\mu\text{mol/L}$); 如图 5 所示: 黄血盐测定三价铁离子的标曲为 $A_{836} \times 10 = 8.051C_{\text{Fe}^{3+}}$ mmol/L, $R^2 = 0.9980$, 偏差系数为 $CV = 2.52\%$ 。

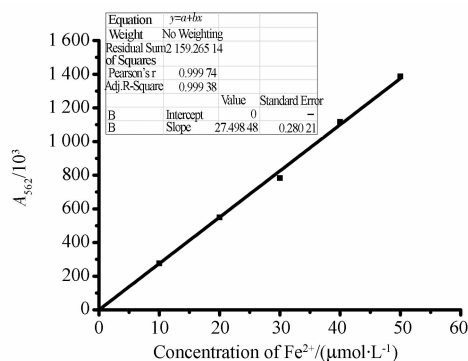


图3 Fe^{2+} 的 Ferrozine 法标准曲线

Fig. 3 Standard curve of Fe^{2+} with Ferrozine method

3.3 Ferrozine 法的适用性检验

为进一步检测改进的 Ferrozine 法的可信度, 采取了几个不同类型的铁剂进行了验证, 1 号样为亚铁离子样品, 2 号样为 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 离子混合样品, 3、4、5 号样为四氧化三铁纳米颗粒分散在水相的样品。亚铁和总铁离子的验证: 将配制的一定浓度的样品, 同时用 ICP-AES 和 Ferrozine 法进行测定, 以

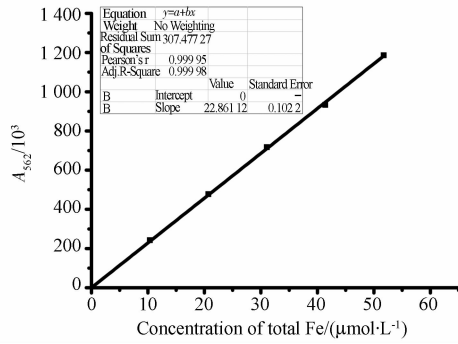


图4 总铁离子的 Ferrozine 法标准曲线

Fig.4 Standard curve of total iron ion with Ferrozine method

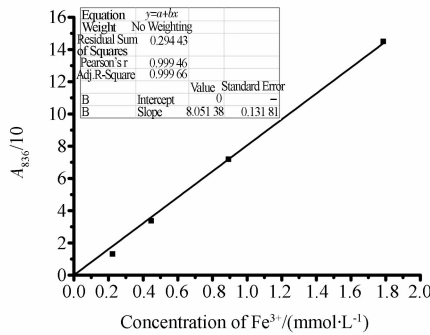


图5 Fe³⁺ 的黄血盐法标准曲线

Fig.5 Standard curve of Fe³⁺ with Ferrocyanide method

探究 Ferrozine 法的精确性。三价铁离子的验证:先用 Ferrozine 法测定 Fe²⁺ 和总铁,进一步计算出 Fe³⁺ 的含量,并将此结果和黄血盐测定三价铁的结果进行比较。每个样品平行测定 3 次,求得平均值,如表 1 所示。

表 1 Ferrozine 法测定不同类型的铁剂的验证
Table 1 Determination of the different types of iron using Ferrozine method and the other methods

样品 编号	C _{Fe} ²⁺ /(μmol·L ⁻¹)				
	C _{Fe²⁺} Ferozine 测定值	C _{总铁} ICP-AES 测定值	C _{总铁} Ferozine 测定值	C _{Fe³⁺} Ferozine 计算值	C _{Fe³⁺} 黄血盐 测定值
1	24.77 ± 0.20	23.40 ± 0.47			
2	11.64 ± 0.08	51.73 ± 1.55	51.98 ± 0.06	40.34 ± 0.14	39.59 ± 0.79
3		642.2 ± 1.93	549.8 ± 0.86		
4		55.40 ± 1.66	48.09 ± 1.24		
5		29.41 ± 0.74	24.47 ± 1.02		

由上表 1 可知:改进 Ferrozine 法可以准确地测定游离的亚铁离子、总铁离子的含量。由 1 号样可知:改进 Ferrozine 法测定 Fe²⁺ 的结果和 ICP-AES 法

测定结果相比较,绝对值相差为 0.53 μmol/L,偏差系数为 3.67%。由 2 号样可知:改进 Ferrozine 法测定总铁的结果(51.98 μmol/L)和 ICP-AES 法测定结果(51.73 μmol/L)相比较,绝对值相差 0.25 μmol/L,偏差系数为 0.48%;同时,由 Ferrozine 法测定亚铁和总铁后计算出的 Fe³⁺(40.34 μmol/L)同黄血盐法测定 Fe³⁺ 的值(39.59 μmol/L)相比,绝对值相差 0.75 μmol/L,偏差系数为 1.89%。值得注意的是:此改进的 Ferrozine 法可以直接预测分散在水相的四氧化三铁纳米颗粒的总铁含量,集酸解、还原、显色于一体,避免了 ICP-AES 测定法和原子吸收测定法中样品前处理的繁琐步骤,如上表 3、4、5 号样所示:此法测定结果与 ICP-AES 测定结果的比值分别为 85.6%、86.8%、83.2%,平均为 85.2%。故采用此法测定四氧化三铁纳米颗粒的总铁含量时,修正系数定为 0.85,计算时, Ferrozine 法测定值除此校正系数即可得到准确结果。

综上所述:此改进的 Ferrozine 法适用范围广,操作简单,且准确度较高。

参 考 文 献

- Viollier E, Inglett P W, Hunter K, et al. The ferrozine method revisited: Fe(I)/Fe(III) determination in natural waters. Applied Geochemistry, 2000; 15:785—790
- 孙长峰,郭 娜. 微量元素铁对人体健康的影响. 微量元素与健康研究,2011; 28(2): 64—66
Sun C F, Guo N. Trace element iron effects on human health. Studies of Trace Elements and Health, 2011; 28(2) :64—66
- Stookey L L. Ferrozine—a new spectrophotometric reagent for iron. Analytical Chemistry, 1970; 42(7) :779—781
- 李 媛,陈奇洲,欧国荣,等. 菲咯嗪分光光度法测定水中的总铁. 解放军预防医学杂志,2003; 21(1) :30—33
Li Y, Chen Q Z, Ou G R, et al. Using ferrozine UV-spectrophotometry to determine total iron in the water. Journal of Preventive Medicine of Chinese Peoples Liberation Army, 2003; 21(1) :30—33
- 郭小群,谯康全,蔡述兰,等. 邻菲罗啉分光光度法测定自来水中的铁(III)含量. 四川理工学院学报(自然科学版),2008; 21(4) :72—73
Guo X Q, Qiao K Q, Cai S L, et al. Determination of iron(III) in tap water with O-phenanthroline UV-Spectrophotometry. Journal of Sichuan University of Science & Engineering(Natural Science Edition),2008; 21(4) :72—73
- 林君英,计时华. 食物中游离态二价铁及游离态三价铁的测定. 广东微量元素科学,1996; 3(8) :29—33
Lin J Y, Ji S H. Determination of free Fe²⁺ and Fe³⁺ in foods. Guangdong Trace Elements Science, 1996; 3(8) :29—33

Determination of Fe^{2+} , Fe^{3+} and Total Iron Ion with Improved Ferrozine UV-Spectrophotometry

LIU Qiu-ying, LUO Yan-e

(Northwest University, Xi'an 710069, P. R. China)

[**Abstract**] Iron is one of the common elements in nature, and it exists two valence states in solution, namely ferrous ions and ferric ions. To accurately determine the content of ferrous ions, ferric ions and total iron, this work has explored an improved Ferrozine method. Divalent iron can react with Ferrozine to form a violet complex, which has a maximum absorption peak at 562nm. Using this characteristic divalent iron content can be measured directly. Using hydroxylamine hydrochloride as the reducing agent, ferric iron is reduced to divalent iron and total iron content can be determined, and further ferric iron content can be calculated. The results show this method can accurately determine free divalent iron and total iron, and the results are consistent to ICP-AES results. Ferric iron content calculated by Ferrozine method is consistent to the result detected by Ferrocyanide method. Moreover, this method can be used to determine iron content of iron oxide nanoparticles dispersed in the aqueous phase. Compared with ICP-AES method, the correction factor is about 85%. So this method is widely applicable, simple, economical and accurate.

[**Key words**] Ferrozine method divalent iron trivalent iron total iron determination

(上接第 84 页)

Analysis of Hydrocarbon Genesis and Accumulation Stage of Dongdaohaizi Sag in Junggar Basin

DING Xiang-hua

(Research Institute of Experiment and Detection of Xinjiang Oilfield Company, Karamay 834000, P. R. China)

[**Abstract**] Geochemical analyses, such as total organic carbon (TOC), pyrolysis, gas chromatograms of saturated hydrocarbons and carbon isotopes, *et al*, were performed on the source rocks and hydrocarbon samples of Dongdaohaizi Sag. On that basis, the source rocks of Dongdaohaizi Sag were evaluated, the research suggests that the carboniferous hydrocarbon source rocks are in high-and post-mature with bad organic type and belong to middle grading, the Permian hydrocarbon source rocks are in mature to high mature with better to best organic type, Jurassic hydrocarbon source rocks are in mature with bad organic type and belong to middle grading. The hydrocarbon genesis of this region is complex. Through the comparative analysis of geochemistry characteristics and source of hydrocarbon, the results show that there are oil and gas coming from Permian hydrocarbon source rocks, oil from Jurassic and gas from carboniferous. The complicated hydrocarbon genesis lead to the various accumulation stages, the research of the hydrocarbon maturity and the hydrocarbon inclusions shows that the oil and gas accumulated both in single stage and multi stages.

[**Key words**] source rock geochemical characteristics hydrocarbon inclusions accumulation stage
Dongdaohaizi Sag