

## 电化学检测器/离子色谱法检验血液中的氰离子

王力春<sup>1</sup>, 鲁蕴甜<sup>2</sup>, 马健<sup>1</sup>

(1.重庆市公安局物证鉴定中心, 重庆 401147; 2.重庆市九龙坡区环境监测站, 重庆 400021)

**摘要:** 目的 建立了一种血液中氰化物的电化学检测器/离子色谱检测方法。方法 使用甲醇沉淀血液中的血红蛋白,经高速离心后,通过活化 Dionex OnGuard II RP 过滤柱,采用美国戴安 ICS-5000 型离子色谱仪配以 AS19 高容量色谱柱,20 mmol/L KOH 全自动淋洗液发生器,Ag/AgCl 三电极体系电解池,ED 电化学检测器,对氰离子进行检测,建立了一种快速、准确的测定方法。结果 实验表明氰离子在 0.005~5  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内有良好的线性关系( $r^2=0.99968$ ),依据  $S/N=3$  计算方法的检出限为  $1 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ ,依据  $S/N=10$  方法的定量下限为  $4 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ , $\text{CN}^-$  的空白加标回收率为 84%~120%,相对标准偏差(RSD)为 3.18%。结论 实验表明本方法前处理过程简单,方法检出限低、灵敏度高、操作简单,适用于血液中氰离子含量的测定。

**关键词:** 离子色谱;电化学检测器;血液;氰化物

中图分类号: DF795.1; O657.7+5 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-2072.2017.04.006

文章编号: 1671-2072-(2017)04-0033-04

## Determination of Cyanide Ion in Blood by Ion Chromatography with Conductivity Detector

WANG Li-chun<sup>1</sup>, LU Yun-tian<sup>2</sup>, MA Jian<sup>1</sup>

(1. Center of Forensic Science, Chongqing Municipal Public Security Bureau, Chongqing 401147, China; 2. Environmental Monitoring Station of Chongqing Jiulongpo District, Chongqing 400021)

**Abstract:** **Objective** A method was established to determine cyanide ion in human blood based on ion chromatography. **Method** 3mL of methanol was added to 1mL of heart blood to precipitate the protein in blood. The sample was centrifuged for 5min at the speed of 10,000 rpm. The supernatant was filtered through activated Dionex OnGuard II RP column and separated on an IonPac AS19 column with the 20mmol/L KOH solution. The eluent was detected by an ED electro chemical detector with an Ag/AgCl three electrode system for cell. **Results** The limit of detection (LOD) of  $\text{CN}^-$  is  $1 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ . The limit of quantification (LOQ) was  $4 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ . In the range of 0.005~5  $\mu\text{g/mL}$ , it has a good linear relationship ( $r^2=0.99968$ ). The recovery of spiked samples was 84% - 120%, with a relative standard deviation (RSD) of 3.18%. **Conclusion** The sample preparation is simple. The established method is sensitive and can be used to determine cyanide ion in human blood for related poisoning cases.

**Keywords:** ion chromatography; conductivity detector; blood; cyanide

氢氰酸及其盐类为最常见的氰类化合物。氰化物的盐类通常为无色或白色固体,有微弱的苦杏仁味,易溶于水和醇类。它具有广泛的工业用途,且多具有较强的毒性。无机氰化物因在体内很易解离出氰离子( $\text{CN}^-$ ),故多为剧毒物质,其致死率很高,当血液中氰离子的浓度为 0.5  $\mu\text{g/mL}$ ,或成人经口摄入

氰化钾、氰化钠 50~250  $\text{mg}^{[1]}$ ,可引起中枢性神经衰竭致死。氰化物可以通过呼吸道、胃肠道和皮肤进入人体,进入人体的氰化物易与红细胞结合,故血液中氰离子含量最高,其次为脑和心脏,其他组织则较少。近年发生急性氰化物中毒事故屡见不鲜,多为投毒和误食,杏仁、桃仁等植物的果实含有氰糖苷也容易引起中毒<sup>[2]</sup>。目前氰化物的检测主要有明胶配位法,冷原子荧光法,传感器法,离子色谱法<sup>[3]</sup>,比色法<sup>[4-7]</sup>,硝酸银滴定法,分光光度法<sup>[8-9]</sup>,极谱法<sup>[10]</sup>,气相

收稿日期: 2016-11-28

作者简介: 王力春(1980—),男,工程师,硕士,主要从事法医毒物分析研究。E-mail: esythfocus@163.com。

色谱-质谱法<sup>[11]</sup>,原子吸收光谱法<sup>[12]</sup>,X射线衍射法和红外吸收光谱法<sup>[13,14]</sup>。血液中氰化物的检测相关报道较少,主要有离子色谱法<sup>[15]</sup>,电化学法<sup>[16]</sup>。

近年来随着离子色谱技术的不断成熟,溶液中氰化物的检测方法逐步被离子色谱法取代,Strong与Dolizine等<sup>[17-18]</sup>报道,采用脉冲安培检测器测量饮用水中氰化物。戴安园等<sup>[19]</sup>采用紫外检测器对银、金等金属的氰化物络合物进行了定量检测。汪国权等<sup>[20]</sup>采用次氯酸盐( $\text{ClO}^-$ )将 $\text{CN}^-$ 氧化为氰酸根( $\text{CNO}^-$ )后,采用电导检测器对水中氰化物进行测定。

氰化物中毒案件中,血液中氰离子的检测对于案件的定性具有十分重要的意义,本文拟利用电化学检测器离子色谱法测定中毒案件中人体血液中的氰离子含量。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

Dionex 5000 型离子色谱仪(美国戴安公司),配有 AS-AP 自动进样器,DC 恒温箱,DP 梯度、等度泵,EG 淋洗液自动发生器,Chromeleon7.2 SR4 色谱工作站;IonPac AS19 分析柱(4×250 mm)及 IonPacAG19 保护柱(4×50 mm)(美国戴安公司);Dionex OnGuard II RP 过滤柱(美国戴安公司)。ED 电化学检测器(美国戴安公司);Ag/AgCl 参比三电极体系电解池(美国戴安公司)。Millipore Direct-Q3 超纯水发生系统(美国 MILLIPORE 公司);Beckman Allegra X-22R Centrifuge 型冷冻离心机(德国贝克曼公司),Vortex-Genie 2 涡旋振荡器(美国 Scientific Industries 公司)。

氰离子标准溶液 1 000  $\mu\text{g/mL}$ (美国 AccuStandard 公司),甲醇(色谱纯,美国 Tedia 公司),空白血液若干(市血液中心提供)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 色谱分析条件

淋洗液为 20 mmol/L KOH;系统流速为 1 mL/min;进样量为 25  $\mu\text{L}$ ;电化学检测器工作电压 80 mV。

#### 1.2.2 样品预处理

由于血液中的成分相对较复杂,为有机物质和无机物质的混合物,因此在对血液进行前处理过程中首先要沉淀蛋白。取 1 mL 血液加入 3 mL 甲醇,使用涡旋振荡器震荡 1 min,使血液和甲醇混合均匀,10 000 转高速离心 5 min,取上清液,经过活化后的 Dionex OnGuard II RP 柱过滤后待检。

#### 1.2.3 绘制工作曲线

氰离子标准储备液(1 000  $\mu\text{g/mL}$ )分别用超纯水稀释成 100  $\mu\text{g/mL}$  和 10  $\mu\text{g/mL}$  作为工作液备用,经计算取一定的体积分别加入到 1 mL 空白血液中配制 0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5  $\mu\text{g/mL}$  七个不同浓度样品,经 1.2.2 方法处理后进样,保留时间定性,峰面积定量,测得各浓度对应的峰面积,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制工作曲线。

#### 1.2.4 样品测定

按照 1.2.2 方法,取上清液进行离子色谱检测,记录相关数据。

## 2 结果与讨论

### 2.1 空白血液及方法检出限浓度色谱行为

按照 1.2.1 的色谱分析条件及 1.2.2 的血液前处理方法,分别测定空白血液,方法定量下限浓度(血液中氰离子含量  $4 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ ),分别得到图 1 和图 2 两组色谱图,如图可见空白血液在保留时间 7 min 附近无干扰,方法检出限为  $1 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ ( $S/N=3$ ),方法定量下限浓度  $4 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ ( $S/N=10$ )。

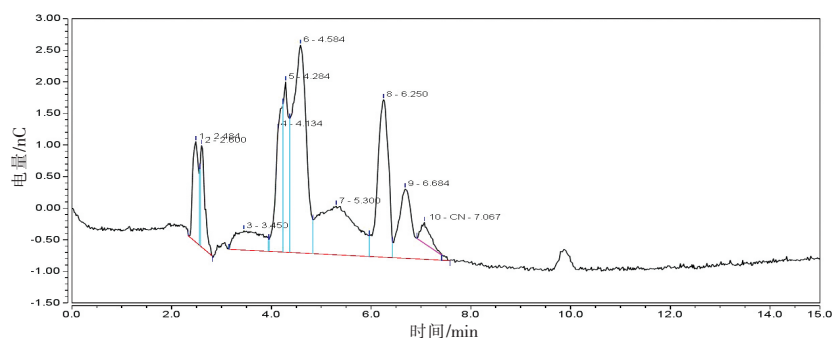


图 1 血液中氰离子浓度  $4 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$  的离子色谱图

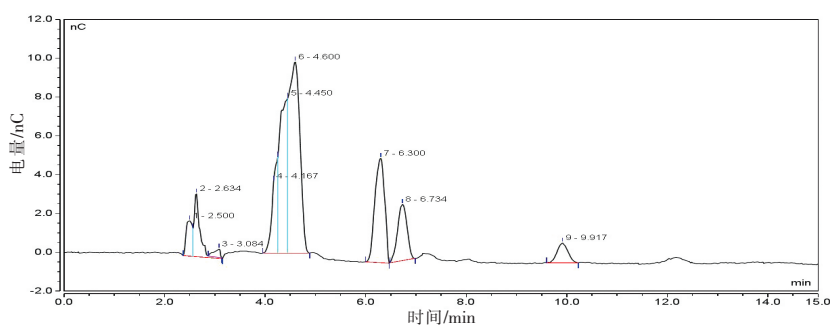


图2 空白血液离子色谱图

## 2.2 检测器的选择

电导检测器是离子色谱常用的检测器,这种检测器需要用抑制器扣除洗脱液的本底电导。 $\text{CN}^-$ 在抑制器中发生反应容易生成弱解离且易挥发的氢氰酸,它的电导极低以致无法检测,故电导检测对 $\text{CN}^-$ 灵敏度不高。相反安培检测器则不需要抑制器,在电解池中氰化物组分在工作电极表面进行氧化还原反应时转移的电量,在一定浓度范围内与 $\text{CN}^-$ 的浓度呈线性关系,因此在检验 $\text{CN}^-$ 时选择 $\text{Ag}/\text{AgCl}$ 参比三电极体系电解池、电化学检测器。

## 2.3 淋洗液浓度及流量的选择

本文采用淋洗液自动发生器(EG)设置不同浓度的 $\text{KOH}$ 溶液,在流量固定的情况下,通过实验综合分析色谱分离效果,发现浓度在 $15\sim 25\text{ mmol/L}$ 时,均能得到较好的色谱图。考虑到血液中的其他杂质会吸附到柱子表面,也可采用等度和梯度淋洗结合的方式,在分析结束前 $1\sim 2\text{ min}$ 内采用较高浓度淋洗液冲洗分离柱。当淋洗液浓度为 $20\text{ mmol/L}$ ,综合分析待测物保留时间,柱压力等参数,实验发现当柱流量为 $0.5\sim 1.5\text{ mL/min}$ 时,保留时间在 $7\sim 8\text{ min}$ ,且柱压

维持在 $2000\sim 2300\text{ psi}$ 。综上所述,本文实验过程中淋洗液浓度设为 $20\text{ mmol/L}$ ,流量设置为 $1\text{ mL/min}$ 。

## 2.4 电极电压的选择

通过实验发现使用电化学检测器时,色谱的峰形及灵敏度均收到检测器工作电压的影响,根据 $\text{CN}^-$ 的氧化电位,将电压从负向正逐渐增加,峰高随着控制扩散平台的到达而增加。超过这一电压,峰面积则随着其他反应物与其他待测物的竞争作用而降低,这些反应可能是银氧化生成氧化物或者氢氧化物,因而毒化了电极表面导致。实验发现电压在 $-40\sim 160\text{ mV}$ 内变化时, $80\text{ mV}$ 为最佳工作电压,如图3。

## 2.5 方法评价

取空白血 $1\text{ mL}$ ,分别加入氰化物标准溶液,配制成7个不同浓度的氰化物样品,浓度依次为 $0.005$ 、 $0.01$ 、 $0.05$ 、 $0.1$ 、 $0.5$ 、 $1$ 、 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ 将上述样品进行检测,在最优的色谱条件下测定,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标做线性回归曲线,考察标准溶液曲线,相关系数,方法的检出限( $\text{LOD}, S/N=3$ )和定量下限( $\text{LOQ}, S/N=10$ ),如图4结果表明,在该浓度范围内线性关系良好,相关系数 $r^2$ 为 $0.99968$ 。回归方程为

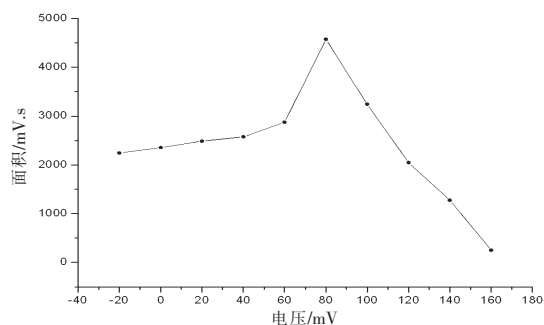


图3 电极电压与色谱峰面积的关系

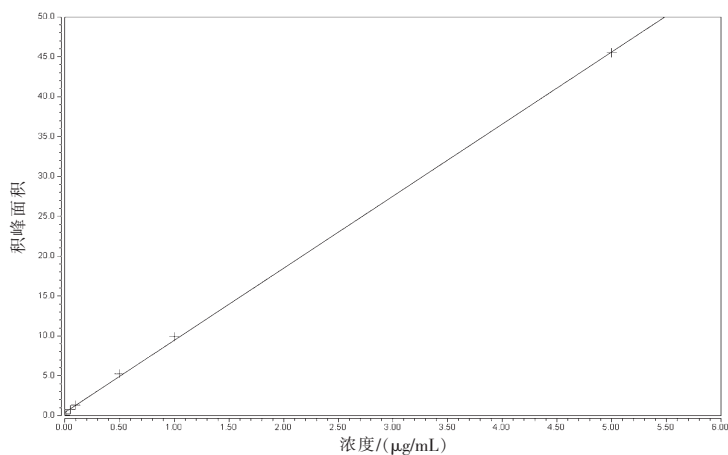


图4 血中氰化物标准溶液工作曲线

$Y=9.089X+0.203$ ,方法的检出限为  $1 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ ,定量下限为  $4 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ 。如表 1 所示该方法对  $\text{CN}^-$  的加标回收率为 84%~120%,取 5 次实验结果,计算得  $\text{CN}^-$  相对标准偏差(RSD)为 3.18%,说明该方法精密度好,适用于测定血液中  $\text{CN}^-$  的含量。

表 1 方法回收率及相对标准偏差测定结果 (n=5)

样 品	$\text{CN}^-$		
	添加浓度 /( $\mu\text{g/mL}$ )	测定浓度 /( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率 /(%)
1	0.005	0.0042	84.00±3.18
2	0.010	0.0120	120.00±3.18
3	0.050	0.0470	94.00±3.18
4	0.100	0.0910	91.00±3.18
5	0.500	0.4820	96.40±3.18

## 2.6 实际案例

2009 年 3 月 2 日 16 时许,重庆市某县兄妹二人放学后,误食放于家中用于毒狗的“糖丸”后中毒死亡。提取二人的血液,采用本文所述方法,在二人的血液中均检出氰离子成分,浓度分别为  $27.5 \mu\text{g/mL}$ ,  $30.4 \mu\text{g/mL}$ 。该检验结果为案件的判断提供了依据。

## 3 结论

本研究建立了一种血液中氰离子的电化学检测器/离子色谱检测方法,该方法简便、快速,可为氰化物中毒案件的判断和侦察提供依据和线索。

### 参考文献:

- [1] 卓先义.毒(药)物中毒鉴定理论与实践[M].北京:中国检察出版社,2001:1021.
- [2] 李云鹏,董兆君.血液中氰化物检测研究进展[J].国际检验医学杂志,2007,28(5):457-458.
- [3] 史立学,周围,王波,等.离子色谱法检测马铃薯及其淀粉中氢氰酸[J].分析试验室,2012,(9):118-120.
- [4] 吴士兰,孙云霞.不用有毒试剂直接测定废水中氰化物方法的研究[J].分析测试学报,1995,14(6):86-88.
- [5] 周代.痕量汞-氰化物及硫化物的冷原子荧光测定[J].分析

测试通报,1988,7(3):46-47.

- [6] 石巍,胡涛,汪炳武.冷原子荧光法间接测试水中的氰化物[J].分析测试学报,1996,15(5):56-58.
- [7] 朱德荣,孙慧,潘文龙,等.纳米银修饰的压电晶体传感器用于水中痕量氰化物测定的研究[J].分析测试学报,2008,27(7):686-690.
- [8] 田亚赛.利用分光光度计的时间扫描功能快速测定水中氰化物[J].分析试验室,2015,34(11):1333-1335.
- [9] 田芹,江林,王丽平.水中氰化物的测定及保存研究[J].分析试验室,2010,29(5):82-85.
- [10] 田亚赛,李晓惠,刘海军.异烟酸-巴比妥酸极谱法测定水中痕量氰化物[J].分析试验室,2016,35(2):201-203.
- [11] 乔静.GC/MS 法用于检测氰化物 1 例[J].中国法医学杂志,2011,26(1):72-73.
- [12] 黄兰芳,何跃武.全差示光度法测定血液中的氰化物[J].湖南医科大学学报,1998,23(1):21-23.
- [13] 董明.利用红外光谱快速检验氰化物[J].刑事技术,2001,(3):25-27.
- [14] 韩凤鸣,赖仕均,张敏.X 射线法检验氰化钾[J].光谱实验室,2009,26(4):865-866.
- [15] Orhan Destanoğlu, Gülçin Gümüş Yılmaz. Determination of Cyanide, Thiocyanate, Cyanate, Hexavalent Chromium, and Metal Cyanide Complexes in Various Mixtures by ion Chromatography with Conductivity Detection[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2016,39(9): 465-474.
- [16] Yaqoob M, Nabi A, Worsfold P J. Determination of Nanomolar Concentrations of Phosphate in Freshwaters Using flow Injection with Luminol Chemiluminescence Detection [J]. Analytica Chimica Acta, 2004,510(2):213-218.
- [17] Strong DL, Dasgupta PK, Friedeman K, et al. Electrodialytic Eluent Production and Gradient Generation in ion Chromatography[J]. Analytical Chemistry, 1991,(63):480-483.
- [18] Dolizine TW, Esposito GG, Rinehart DS. Determination of Cyanide by ion Chromatography[J]. Analytical Chemistry, 1992,(3):53-55.
- [19] 戴安中国有限公司应用研究中心.采用离子色谱紫检测法直接检测金属氰化物[J].环境化学,2006,25(2):242-245.
- [20] 汪国权,蒋蓉,温忆敏,等.离子色谱间接法测定水和食品中氰化物[J].中国卫生检验杂志,2005,15(1):58-59.

(本文编辑:施妍)