文章编号:1006-6144(2006)01-0034-03

聚乙烯-双硫腙复膜树脂分离富集/原子吸收法测定地质样品中的痕量金

江放明,周方钦*,徐洁昕,白祖海
(湖南湘潭大学化学学院,湖南湘潭 411105)

摘 要:研究了聚乙烯双硫腙复膜树脂的合成及其分离富集痕量金的条件。于 pH 为 2.0 的 HCl 介质中,金离子被定量吸附在聚乙烯双硫腙复膜树脂上,并可用 5%硫脲-0.1 mol/LHCl 溶液洗脱,洗脱液用火焰原子吸收光谱法测定,金的回收率在 91.5%~99.7%之间。本法可用于地质样品中痕量金的分离富集与测定。

关键词:聚乙烯;双硫腙;分离富集;原子吸收光谱法;金
中图分类号:O657.31 **文献标识码**:A

1 前言

利用螯合剂来分离富集痕量元素是分析化学中的重要研究方向之一。对于地质样品中痕量贵金属元素,因其含量甚微,且样品组成复杂,必须预先分离富集方可准确测定。有关分离富集金的树脂较多[1,2],以双硫腙为螯合剂的螯合树脂也有报道[3],但本文所用包夹有双硫腙的聚乙烯(PE)膜粘附在 717 强碱性阴离子交换树脂上制成的复膜树脂尚未见报道。该树脂在一定程度上克服了一般螯合树脂中吸附剂容易流失的缺点,与其它螯合树脂相比,具有交换容量大,交换速率高,选择性好,使用寿命长等优点。此外,树脂的合成方法简单,成本低廉。本法可用于地质样品中痕量金的分离富集与测定。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

WFX-120 原子吸收分光光度计(北京瑞利分析仪器公司);金空心阴极灯(日本,日立公司);磁力搅拌器(上海浦东物理光学仪器厂);pHS-3C 精密 pH 计(上海雷磁仪器厂);CS501 型超级恒温器(重庆实验设备厂)。

金标准储备液(100 μg/mL):将 0.1000 g 高纯金溶解于 40 mL 王水中,水浴蒸发至近干。冷却后加入 20 mL 6 mol/LHCl 溶解,转入 1 000 mL 棕色容量瓶,用 1.0 mol/LHCl 定容,工作液取金标准储备液用二次蒸馏水逐级稀释到所需浓度;717 型树脂(粒度为 0.3~1.2 mm,上海化学试剂采购供应站);双硫腙,HCl,四氢呋喃,乙二胺,NaOH 均为分析纯,聚乙烯(PE,市售)。实验用水为二次石英蒸馏水。

2.2 吸附柱的制备

在 100 mL 烧杯中先放入 20 mL 四氢呋喃,再加入 0.5 g 双硫腙和 4 g PE,室温下不断搅拌,慢慢加入 8 g 干燥后的 717 型树脂。继续搅拌直到溶液表面形成一层暗红色薄膜,倒出反应物,在 50℃左右干燥,让有机物挥发完全。将其捣碎分散成粒状,湿法装入 250×10 mm i.d. 的带夹套的层析柱中,柱高约 80 mm。柱装好后,用 pH 值为 2.0 的 HCl 溶液活化柱子,然后用二次水冲去浮色,备用。

收稿日期:2004-06-08 **修回日期**:2004-09-15
基金项目:湖南省教育厅自然科学基金(No.02C576)
通讯联系人:周方钦,男,教授,主要从事原子光谱分析研究.

万方数据

2.3 仪器的工作条件

实验选择仪器的最佳工作条件为:检测波长 242.8 nm,灯电流 10 mA,狭缝宽 0.2 nm,空气流量 7.0 L/min,乙炔气流量 1.0 L/min,燃烧器高度 10 mm。

2.4 实验方法

将金标准溶液在 pH 值为 2.0 的盐酸介质条件下上柱,控温 40℃,流速为 1.5 mL/min,以 pH 值为 2.0 的盐酸溶液洗涤,然后用 5%硫脲-0.1 mol/LHCl 溶液洗脱,流速为 1.5 mL/min,用 10 mL 比色管承接洗脱液,二次水稀释至刻度、摇匀,在选定的仪器工作条件下测定金。

3 结果与讨论

3.1 树脂床高度以及吸附时间的影响

树脂床的高度是影响富集和分离的重要因素。虽然柱床越高越有利于金的定量富集,但柱子过高不利于金的洗脱与干扰离子的消除。实验表明,树脂床高度在 50～150 mm 之间均能定量富集金。实验中选择 80 mm 柱高。在 pH 值为 2.0 的盐酸介质中,PE 复膜树脂对金的吸附率随着时间的延长而增大,50 min 时接近完全吸附。

3.2 上柱液流速及酸度的影响

收集上柱液在不同流速下的流出液进行测定。实验发现,流速在 0.5～5 mL/min 内金均能完全吸附,选择上柱液流速为 1.5 mL/min。各取 10 mL 不同 pH 值的上柱液通过已用 HCl 溶液活化好的吸附柱,然后用 5%硫脲-0.1 mol/LHCl 溶液洗脱金,洗脱液用火焰原子吸收法测定。实验结果(见图 1)表明,上柱液 pH 值在 2.0 左右时,方法有最大的吸光度。

3.3 洗脱液的选择

分别比较了不同浓度 KSCN,乙二胺-酸性硫脲,硫脲,硫脲-盐酸的洗脱效果。其中 5%硫脲-0.1 mol/LHCl洗脱效果最好。

3.4 洗脱液温度的选择

从动力学角度来看,升温有利于金的解吸。但温度在 50℃以上时,洗脱效果开始变差(见图 2)。本文选择洗脱液温度为 40℃。

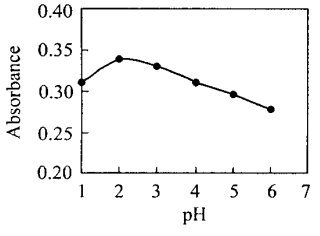


Fig. 1 Effect of pH value on absorption

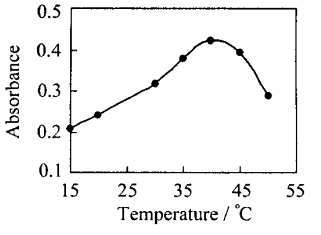


Fig. 2 Effect of temperature of eluent

3.5 洗脱液流速的影响

洗脱液流速是影响金富集效率的重要因素,较快的流速虽能缩短分析时间,但洗脱曲线展宽,富集效果变差。实验结果表明,选用 1.5 mL/min 的洗脱液流速能定量回收金,且洗脱峰形较好。

3.6 复膜树脂的饱和吸附容量及富集倍数

按动态法[4]实验,用 20 μg/mL 金标溶液连续上柱,直到流出液浓度不再变化,再用 pH 为 2.0 左右的 HCl 溶液清洗柱子,直到流出液中的金在检出限以下。然后,将柱上的金完全洗脱,测得复膜树脂的饱和吸附容量为 30.8 mg/g。对 0.5 μg/mL 的 1 000 mL 金溶液通过富集柱洗脱分离,金的富集倍数达 23 倍。

3.7 干扰实验

实验研究了样品中主要干扰离子的影响情况。对 1～25 μg/mL 金的上柱液,在±5%的误差范围内,下列含量的离子不影响测定:Ca^{2+}、Mg^{2+} (3.5 mg); Fe^{3+}、Cu^{2+}、Pb^{2+}、Zn^{2+} (2.0 mg);Mn^{2+}、Cr^{3+} (1.0 mg);Pt^{4+}、Tl^{3+} (0.1 mg)。

万方数据

4　试样分析

4.1　校准曲线

准确配制 Au 标准溶液系列,按实验方法在所选仪器条件下测定吸光度值,得线性回归方程为 $A=0.0303c(\mu g/mL)-0.0038$,相关系数 $r=0.9993$。

4.2　试样分析与加标回收实验

将尾矿砂粉碎,研磨,过 80 目筛,烘干至恒重。称取 2.0 g 样品或 GBW07230 标样于聚四氟乙烯烧杯中,用少量水湿润,加 20 mL HF 和 30 mL 新制王水,在 60～80℃的水浴中消解 6 h 后于电热板上加热至近干,加入少量硝酸溶解残渣,用二次水转入 100 mL 容量瓶中,定容,摇匀,按实验方法对样品进行金含量的测定与加标回收实验。所得结果见表 1 和表 2。

Table 1　Analytical results of samples

Sample	Measured value (μg/g)	Average (μg/g)	Recommended (μg/g)	RSD (%)
GBW07230	1.320,1.350,1.310 1.344,1.332,1.329	1.331	1.330	1.11
Ore	1.210,1.233,1.238 1.220,1.248,1.201	1.225	—	1.45

Table 1　Results of recovery for gold

Sample	Added (μg)	Found	Recovery (%)
1	0	24.5	—
2	20	42.8	91.5
3	50	73.9	98.8
4	100	120.2	95.7
5	150	174.1	99.7

参考文献:

[1]　张　凯,孙其志,李增文,等. 分析化学[J],1997,**25**(6):659.
[2]　杨　柳,周方钦,彭红丰,等. 分析化学[J]. 2001,**29**(12):1402.
[3]　张　凯,鲍长利,李增文,等. 分析化学[J],1997,**25**(4):404.
[4]　程德平,夏式均. 分析化学[J],1995,**23**(6):681.

Determination of Gold in Ore by Atomic Absorption Spectrometry after Separation and Concentration with Polyethylene-Dithizone Double Membranes Resin

JIANG Fang-ming, ZHOU Fang-qin*, Xu Jie-xin, BAI Zu-hai
(*College of Chemistry, Xiangtan University, Xiangtan, Hunan* 411105)

Abstract: The conditions for synthesis of PE(polyethylene)-Dithizone double membranes resin and for separation and preconcentration of trace gold in geological samples have been studied. The experiment results showed that gold was enriched on the PE-Dithizone double membrances resin column in pH 2.0 hydrochloric acid media and was eluted using 5% sulfourea and 0.1 mol/L hydrochloric acid as the eluent. Gold in the elution was then determined by atomic absorption spectrometry. The developed method was applied to the analysis of gold in geological samples with recovery of 91.5%～99.7%.

Keywords: Polyethylene; Dithizone; Separation and Concentration; AAS; Gold

万方数据

聚乙烯-双硫腙复膜树脂分离富集/原子吸收法测定地质样品中的痕量金

万方数据 WANFANG DATA 文献链接

作者： 江放明， 周方钦， 徐洁昕， 白祖海， JIANG Fang-ming， ZHOU Fang-qin， Xu Jie-xin ， BAI Zu-hai

作者单位： 湖南湘潭大学化学学院,湖南,湘潭,411105

刊名： 分析科学学报 ISTIC PKU

英文刊名： JOURNAL OF ANALYTICAL SCIENCE

年，卷(期)： 2006，22(1)

被引用次数： 2次

参考文献(4条)

1. 张凯. 孙其志. 李增文 查看详情 1997(06)

2. 杨柳. 周方钦. 彭红丰 查看详情[期刊论文]-分析化学 2001(12)

3. 张凯. 鲍长利. 李增文 查看详情 1997(04)

4. 程德平. 夏式均 查看详情 1995(06)

相似文献(8条)

1. 学位论文 江放明 PE复膜树脂分离富集-原子吸收光谱法测定痕量贵金属元素的研究与应用 2005

贵金属，包括钌、铑、钯、锇、铱、铂等六个铂族元素以及银、金元素，在自然界的含量通常很低，地壳中这些元素一般处于痕量水平，但由于贵金属及其化合物具有一些特殊的物理、化学性质以及生物学效应，其在工业上的应用极为广泛，在学术上的价值也日益重要。人们对贵金属已作了大量的研究，然而对于这些元素的分析，特别是超痕量分析，仍是当今分析化学中公认的一个难题，发展高灵敏度高准确的分析方法，一直是从事于该方面研究的世界各地科学家及科研工作者的努力方向。本文在查阅大量中外文献资料的基础上，制备了聚乙烯（PE）-双硫腙复膜树脂，分别研究了贵金属元素金、银、钯在复膜树脂上的分离富集行为，因此建立了分析检测痕量贵金属金、银、钯的新方法。同时制作了以PE-双硫腙复膜树脂为固定相的微型柱，将流动注射在线分离技术与火焰原子吸收光谱分析技术结合，建立了灵敏高、分析速度快、自动化程度高的流动注射在线分离富集-火焰原子吸收光谱法测定痕量贵金属钯的新方法。文章分为四个部分：

第一章报道了PE-双硫腙复膜树脂的制备过程，并用所制备的复膜树脂作为固定相，用萃取色谱法使微量钯与常见贱金属分离。富集在色谱柱上的钯用1.67mol/L乙二胺-0.5mol/L NaOH溶液洗脱，并用火焰原子吸收光谱法测定。钯的回收率为94.5~101%之间，检出限为0.122mg/mL，结果较好。

第二章报道了将所制备的PE-双硫腙复膜树脂作为固定相填充到自制的微型柱中，将流动注射在线分离富集技术和火焰原子吸收光度法测定技术进行联用。对工业废催化剂中微量钯的测定进行了研究。优化了本检测系统的特征参数。在pH为2的盐酸介质中，以7.0mL/min的速率采样90s，再用1.67mol/L乙二胺-0.5mol/L NaOH溶液洗脱，在30次/h的采样频率下，浓集倍率为42倍，消耗指数是0.24mL，线性范围为0~1500mg/L，检出限为0.32mg/L，其相对标准偏差小于2.7%，回收率在93.2~103%之间。

第三章报道了PE-双硫腙复膜树脂作为色谱柱的固定相，于1mol/L的HCl介质中，银定量吸附在PE-双硫腙复膜树脂上，用0.5 mol/L硫脲-0.3 mol/L NH4Cl溶液洗脱，火焰原子吸收光谱法测定。回收率在96.4~101.6%之间。可用于实际地质样品中银的分离富集与测定。

第四章报道了PE-双硫腙复膜树脂作为色谱柱的固定相，在0.3mol/L的HCl介质中，金定量吸附在PE-双硫腙复膜树脂上，用5%硫脲-1mol/L HCl溶液洗脱，火焰原子吸收光谱法测定。回收率在91.5~99.7%之间，相对标准偏差为3.1%。可用于实际地质样品中金的分离富集与测定。

总之，本文通过大量深入、系统的实验研究，制备了对贵金属元素金、银、钯具有高选择性、高吸附容量的PE-双硫腙复膜树脂。这种树脂在很大程度上克服了螯合树脂合成困难、应用受到限制的缺点；同时解决了螯合剂负载树脂抗酸碱能力弱以及稳定性较差这些难题。并应用制备的复膜树脂，建立了常规色谱柱和自动在线分离富集贵金属元素的方法，具有一定的理论和实际应用价值。

2. 学位论文 于伟利 静电纺丝技术制备光致变色超细纤维与表征 2005

在过去的十年中，静电纺丝技术作为一种简单而又快捷地制备一维纳米-亚微米材料的方法获得了迅速的发展，并逐渐成为纳米材料研究领域的热点之一。如何更好地利用这一技术制备出满足科研、生产需要的超细纤维已经对静电纺丝技术的发展提出了更高的要求。

金属双硫腙是一类比较典型的光致变色化合物，在军事伪装、染料工业及重金属盐的监测等方面有着广泛的应用前景。

本文采用静电纺丝技术制备了聚乙烯吡咯烷酮(PVP)超细纤维，研究了实验参数对静电纺丝纤维形貌的影响，结果表明聚合物浓度，外加电场电压对纤维直径粗细及分布均有一定影响。

本文采用静电纺丝技术分别制备了双硫腙汞/聚苯乙烯、双硫腙镉/聚苯乙烯、双硫腙锌/聚苯乙烯超细纤维，并采用SEM、XRD、UV-Vis、ESR、FTIR对其进行了表征。SEM表明，所用溶剂介电常数越大，所制备纤维越粗；XRD表明，纤维为无定型结构；UV-Vis表明，双硫腙汞光致变色效果最好，双硫腙锌光致变色效果较差，双硫腙镉光致变色效果最差；ESR表明，光照下纤维中有电子转移。

3. 期刊论文 江放明. 周方钦. 白祖海. 吴建华 PE(聚乙烯)-双硫腙复膜树脂分离富集原子吸收法测定地质样品中的钯 -分析试验室2004,23(12)

研究了PE(聚乙烯)-双硫腙复膜树脂的合成及其分离富集样品中钯的条件.于Ph 2.0的HCl介质中,钯定量吸附在PE(聚乙烯)-双硫腙复膜树脂上,用100 g/L乙二胺-20 g/L NaOH溶液洗脱,火焰原子吸收光谱法测定.回收率在94.5%～101%之间.可用于实际地质样品中贵金属的分离富集与测定.

4. 学位论文 杨秀芹 有机光色材料的光学非线性及其应用 2006

有机非线性光学材料的非线性现象、机理及应用的研究是当今非线性光学和光子学领域的重要课题。由于有机光色材料在光存储、光计算、信息处理及集成光学方面具有潜在的应用价值，一直受到各国学者的高度重视。针对有机光色材料的性质及应用，本论文主要的工作有：

在偏振光的激发下，偶氮聚合物薄膜具有明显的光致各向异性。基于介质的光致各向异性，可记录偏振全息。我们从偏振全息的透射琼斯矩阵出发，运用傅立叶展开法对衍射光场展开，根据傅立叶展开系数得到了在物光、参考光不同的偏振态组合的情况下所记录的偏振全息中，用不同偏振态的读出光读出时，衍射光场中各阶衍射光的偏振特性及其衍射效率的表达式。在理论分析的基础上，对甲基橙聚乙烯醇膜记录偏振全息时各阶衍射光的衍射效率进行了计算。

甲基橙-PVA膜中记录偏振全息光栅时，一阶衍射光的偏振状态与物光、参考光、读出光的偏振态之间有着特定的关系。利用这种特定关系，首次提出用甲基橙-PVA膜实现全光逻辑操作的方法，通过偏振状态来表征逻辑本征值，实现了逻辑NOT、逻辑XNOR、逻辑XOR等全光逻辑操作。

两束相干光入射到偶氮掺杂聚合物薄膜时，在光致异构过程中，trans-cis态上的粒子数分布被强度正弦分布的干涉光场所调制，从而引起介质膜中

光致吸收系数和光致折射率的变化，在膜中形成光栅。这种光栅又使得入射光发生衍射，形成自衍射。我们实验测量了甲基橙-PVA膜在532nm光照射下的一阶自衍射的动态特性，并从理论上分析讨论了这种自衍射现象中，几个不同的入射光强下，一阶自衍射效率动态特性，以及一阶衍射效率的稳定值随入射光强的变化规律。

双硫腙汞是一种性能较好的有机非线性光学材料，当连续高斯光束通过双硫腙汞-PMMA膜时，由于热效应引起介质内部局部折射率变化而产生横向的折射率梯度分布，从而使得光通过介质膜后由于自相位调制而产生明显的远场自衍射效应。我们分别用532nm和633nm的激光作照射光，测量了远场衍射花样的光强分布特点。并以不透明屏上的小孔衍射为模型，从基本的Fresnel-Kirchhoff衍射积分公式出发，对衍射花样的光强分布特点进行了数值模拟，模拟结果与实验结果相符合。

基于双硫腙汞-PMMA膜在连续高斯激光光束的作用下，由于自相位调制而产生远场自衍射现象的特性，我们分别用532nm和633nm激光作照射光，对不同的光阑孔径下的光限制效应进行了实验测量，并利用衍射积分公式对532nm和633nm和不同光阑孔径的光限幅效应进行了理论模拟，结果和实验结果相一致。

5.期刊论文 刘玉琴.朱俐冰.周晶 蒜汁复合饮驱铅效果初探 -中国职业医学2000,27(6)

大蒜的主要化学成份为二烯丙基二硫化物、蒜素和蒜氨酸。蒜氨酸在蒜氨酸酶的作用下生成蒜素。大蒜中还含有二十多种微量元素和十八种游离氨基酸；富含维生素C、维生素A、维生素B1、B2等，微量元素锗、硒。近年来，国内外研究证明，大蒜具有强力解毒作用，可以中和经由空气、食物和水等媒介进入人体内的一切毒素，避免身体受到伤害[1]，但对蒜汁复合饮驱铅作用的研究尚无完整报道。本研究在探索大蒜脱臭新工艺的基础上，配制成蒜汁复合饮，对印刷行业接铅工人进行驱铅效果的初步探讨。

1 内容和方法

1.1 择时象选择尿铅在0.24tmol／L左右的印刷行业铅作业工人10人，以尿铅为主要观察指标，每日服用蒜汁复合饮50 ml(蒜汁复合饮含大蒜34%)，连服15 d。另选尿铅在0. 24 μmol／L左右的印刷行业铅作业工人10人，作为对照组，采用配对t检验,观察其排铅效果。接铅作业工人服用蒜汁复合饮的同时，均继续从事铅作业。

1.2 尿样的采集收集一次尿样(50ml)于聚乙烯瓶中，每100 ml尿样加1ml硝酸防腐，在4℃冰箱中保存。

1.3 方法采用双硫腙比色法，日本岛津UV-120型分光光度计在波长510 nn处比色定量。三组数据测定均在同一实验条件下进行。每人每次取尿样三份，取其平均值。

6.学位论文 王鑫 尼克酰胺抑制胰岛移植后IBMIR作用的研究 2008

近年来我国糖尿病的发病率呈现快速增长的趋势。对于严重危害人类尤其是年轻人健康的1型糖尿病(胰岛素依赖型糖尿病)，目前主要采用外源性胰岛素替代的治疗方法。患者不仅需要终生使用胰岛素，而且经常会发生严重的低血糖反应，甚至出现致命的低血糖昏迷。移植不但是目前根治此病的唯一方法，而且可以降低代谢不稳定性以避免低血糖昏迷的发生，又可以防止多种远期的并发症。近年来，全胰腺移植越来越多地被应用于临床，但它具有较多弊病：它是一种创伤性疗法，目前仍有较高的死亡率；它所应用的免疫抑制方案常会引起严重的副反应。而胰岛移植长期以来被认为是一种颇具吸引力的疗法，它不仅操作简便，死亡率极低，又具有反复操作性。所以长期以来，许多科研机构都致力于此项研究。

尽管胰岛移植在治疗1型和部分2型糖尿病有其独特的优势，但其远期疗效不够理想，其主要原因包括(1)胰岛分离过程中的物理化学因素：例如低温，缺氧。(2)胰岛移植早期即刻经血液介导的炎性反应(IBMIR)。(3)移植后机体对胰岛细胞的免疫排斥反应。

目前研究表明，胰岛移植早期常伴有大量胰岛的丢失，这种现象被统称为原发性无功能，而与免疫因素无关。除了胰岛制备中内在的固有质量因素外，另外的一个重要原因就是新植入的胰岛与血流接触后所引发的反应，被称为即刻经血液介导的炎症(Instant blood mediated inflammatory reaction以下简称IBMIR)，其反应特征是血小板的激活和凝血系统以及补体系统的激活。

有证据表明，分离后的胰岛细胞可以合成TF(tissue factor)，而TF是引起外源性血液凝集反应最重要的激活物。在临床胰岛移植中，胰岛细胞一经接触受体的血液，产生的TF就会通过激活外源性凝血途径导致血液的凝集反应，从而导致IBMIR的发生。MCP-1(macrophage chemoattractant Protein)在人类胰岛中也有表达，MCP-1对单核细胞有趋化活性作用并且胰岛移植前该蛋白的水平同临床胰岛移植的愈后密切相关。TF作为外源性凝血途径的起始物，MCP-1作为诱导趋化因子所引起IBMIR的反应有可能是临床胰岛移植低成功率以及需要不止一个供体才能使受体获得正常的血糖水平的主要原因。

因此我们可以假设：在胰岛的提纯和分离过程中，胰岛细胞的TF和MCP-1的表达可以被一些特殊物质所抑制。在不同的供体所提供的胰岛中，由个体差异所引起的TF和MCP-1在MRNA和蛋白质阶段不同的水平支持这种可能性。都知道生理学畸形经常存在脑死亡的病人中，而且移植前的冷藏和组织缺氧能够诱使各种促炎性基因的表达。目前已经有证据表明，尼克酰胺(一种B族维生素的衍生物)可以抑制TF和MCP-1在巨噬细胞和内皮细胞中的表达[3]。因此在这个实验中我们主要验证已经被证明可以抑制单核细胞和巨噬细胞中TF与MCP-1表达的尼克酰胺是否对胰岛细胞有同样的影响。应用它对移植前的胰岛细胞进行预处理从而抑制IBMIR的发生。

材料与方法：

实验动物：普通级封闭群Wistar大鼠，雌雄不限，重量250-300g(购自中国医科大学实验动物部)。实验第一部分：对照组：RPMI1640+胰岛，实验组：RPMI1640+胰岛+尼克酰胺；实验第二部分：实验组：尼克酰胺预处理过的胰岛细胞500单位+RPMI1640 100ul+2ml全血。对照组：基础培养的胰岛细胞500单位+RPMI1640 100ul+2ml全血，空白对照组：RPMI1640 100ul+2ml全血。

胰岛提取：向供鼠胰管内原位逆行灌注胶原酶溶液(用冷的Hank's液配制，剂量为1.5mg/ml)10-12ml，使胰腺充分膨胀。切取后在37±1℃水浴中振荡消化，消化时间12-15 min。终止消化后，两次离心洗涤，过80目筛。Ficoll梯度离心法纯化胰岛，浓度分别为25%、23%、20.5%和11%，离心后于23%和20.5%之间，及20.5%和11%之间交界处吸取胰岛细胞，RPMI-1640洗涤两次备用。获取的胰岛用双硫腙染色来判断所提胰岛的纯度，胰岛细胞数=3次样品中DTZ阳性细胞团数÷3×20×样本总量(ml)。丫啶橙/溴乙啶(AO/EB)荧光染色法显示细胞活率。

提纯后的胰岛细胞与50mM尼克酰胺在37℃ 5%CO2的保温箱中共同培养48h。通过体外葡萄糖刺激下胰岛素释放试验检测不同培养条件下胰岛活性并利用酶联免疫方法测定混合培养后胰岛细胞中TF与MCP1的含量。

体外模拟循环模型建立：该模型由长度为390mm，直径为6.3mm聚乙烯管构成，将循环管的两端通过三腔接头连接，将相同的三个循环管固定置于摆动器上，并放入37℃水浴箱中，通过摆动模拟体内血液循环。

肝素化处理：将所有与大鼠血液相接触的管道内表面均涂以肝素，所用肝素浓度为0.5μg/cm2相当于0.1unit/cm2。

血液制备：新鲜的大鼠血液被收集于肝素化的20ml的注射器中。

血液分析：反应后的血液行血常规检查，计数血小板，白细胞，淋巴细胞，单核细胞数，并通过葡萄糖刺激实验检测胰岛功能。

组织形态学检测：液基细胞学检查检测(TCT)，观察胰岛形态变化。

统计学分析：将所得数据用均值±标准差表示。t检验进行处理，P<0.05认为有统计学意义。

结果：

1.胰岛提取：平均每只大鼠可获得约600IEQ胰岛，经DTZ染色后，纯度>90%。胰岛活率>98%。尼克酰胺混合培养48h后，体外葡萄糖刺激下胰岛素释放试验表明：对照组在低糖溶液中胰岛素平均含量为57.8±6.79μIU/ml，高糖溶液中胰岛素平均含量为199.45±14.80μIU/ml，释放指数(SI)为3.47±0.40。实验组低糖溶液中胰岛素平均含量为58.5±7.38μIU/ml，高糖溶液中胰岛素平均含量为184.39±23.47μIU/ml，释放指数(SI)为3.24±0.26。对照组中TF含量为9.90±2.12pg/islet，MCP1含量为2.22±0.58 pg/islet，实验组中TF含量为1.42±0.42pg/islet，MCP1含量为0.33±0.13 pg/islet。

2.血液分析：对照组中血小板数分别为(n=10)258.1±82.4×109/L、40.9±12.9×109/L、实验组血小板为232.5±73.5×109/L。对照组中白细胞数分别为9.05±0.98×109/L、4.54±0.92×109/L，实验组中白细胞为7.39±1.10×109/L。对照组中淋巴细胞百分数分别为73.5±9.8%、49.8±9.98%，实验组中淋巴细胞为68.6±10.34%。对照组中单核细胞数分别为0.52±0.16×109/L、0.30±0.12×109/L，实验组中单核细胞0.4±0.15×109/L。

3.与血液接触后胰岛素刺激实验结果：对照组在低糖溶液中胰岛素平均含量为24.24±6.22μIU/ml，高糖溶液中胰岛素平均含量为49.02±16.14μIU/ml，释放指数(SI)为1.98±0.29。实验组低糖溶液中胰岛素平均含量为43.5±8.08μIU/ml，高糖溶液中胰岛素平均含量为130.76±21.41μIU/ml，释放指数(SI)为3.02±0.29。

4.TCT检测：对照组中的胰岛数量较少，周围可见大量红细胞形成的微血栓。实验组中胰岛数量较多，周围无大量红细胞包裹，也未见明显微血栓形成。

结论：

1.尼克酰胺可以有效的抑制胰岛细胞中TF和MCP1的表达。

2.应用尼克酰胺对胰岛细胞进行预处理可以有效的抑制IBMIR的发生。

7.期刊论文 刘佳铭.Liu Jiaming 阻抑褪色光度法测定痕量汞 -分析化学2000,28(8)

提出一种测定痕量汞的新的光度法.该法基于Hg(Ⅱ)对 H2O2与离子缔合物AgCl.PVA.Ag+.Fin-褪色反应的抑制效应,该离子缔合 物对应于聚乙烯醇存在下Fajans(法扬斯)法的终点,线性回归方程ΔA=0.020+4.0× 10-3 CHg(Ⅱ)(μg/L),相关系数r=0.9992,Hg(Ⅱ)浓度在4.0～20.0 μg /L范围内服从比耳定律,检出限0.04 μg/L.该法用于废水样中Hg(Ⅱ)的测定,结果与双硫腙法结果相符.

8.学位论文 王本刚 凝血酶抑制剂—阿加曲班抑制胰岛移植后IBMIR的研究 2008

糖尿病是常见的内分泌代谢疾病，其引发的多种并发症严重危害人们的身心健康，只有建立内源性胰岛素分泌系统才能根治糖尿病。目前主要有胰腺移植和胰岛移植两种方法能达到此治疗目的。胰岛移植属于细胞移植范畴，虽然目前胰岛移植对外源性胰岛素依赖性的解除不如胰腺移植高，但与胰腺移植相比具有安全、简便、利于体外移植物修饰、不良反应较低和可重复性等优点，已成为很有发展前景的方法。

尽管胰岛移植在治疗1型和部分2型糖尿病有其独特的优势，但其远期疗效不够理想，其主要原因包括(1)供体胰岛的分离和纯化技术尚不完善，无法获得数量及质量都上乘的胰岛细胞， (2)免疫排斥反应， (3)胰岛缺血缺氧损伤，(4)胰岛移植早期即刻经血液介导的炎性反应(IBMIR)。

目前研究表明，胰岛移植早期常伴有大量胰岛的丢失，这种现象被统称为原发性无功能，而与免疫因素无关。除了胰岛制备中内在的固有质量因素外，另外的一个重要原因就是新植入的胰岛与血流接触后所引发的反应，被称为立即经血液介导的炎症(Instant blood mediated inflammatory reaction以下简称IBMIR)，其反应特征是血小板的激活和凝血系统以及补体系统的激活，这些瀑布反应导致胰岛的损伤。当胰岛细胞与ABO血型相容性的血液相互接触之后，5 min即出现凝血现象。血小板与胰岛表面迅速的结合并导致血液中血小板的迅速减少，紧接着是纤维蛋白形成并围绕在胰岛的表面以及大量炎性细胞浸润和补体的活化，接着就出现血液凝固，从而引起胰岛细胞的破坏。综上所述，这些反应也都是由血小板的活化和凝血反应所引起的。因此寻找一种有效的抑制血小板活化和凝血反应的方法将可以阻止IBMIR的发生，从而减少移植早期胰岛的破坏。

研究表明，凝血酶是一种丝氨酸蛋白酶，由凝血酶原转换而来，它不但是凝血反应中起关键作用的酶，而且是一种有效的血小板活化剂，它通过与血小板表面的PAR-1和PAR-4结合激活血小板，因此凝血酶抑制剂将会有效的抑制凝血的发生和血小板的活化，从而抑制IBMIR。本实验通过应用体外模拟血管模型构建IBMIR模型并通过加入凝血酶抑制剂(阿加曲班)研究其对胰岛移植早期IBMIR的抑制作用。

材料与方法：

实验动物：普通级封闭群Wistar大鼠，雌雄不限，重量250-300g(购自中国医科大学实验动物部)。实验分组：空白对照组即经60min循环反应无胰岛细胞组(2mlblood+RPMI-1640 150μl)，对照组即经60min循环反应含胰岛组(2mlblood+RPMI-1640 150μl+800当量胰岛)，实验组即(2mlblood+RPMI-1640 150μl+阿加曲班1ml+800当量胰岛)。

胰岛提取：向供鼠胰管内原位逆行灌注胶原酶溶液(用冷的Hank's液配制，剂量为1.5mg/ml)10-12ml，使胰腺充分膨胀。切取后在37±1℃水浴中振荡消化，消化时间12-15 min。终止消化后，两次离心洗涤，过80目筛。Ficoll梯度离心法纯化胰岛，浓度分别为25%、23%、20.5%和11%，离心后于23%和20.5%之间，及20.5%和11%之间交界处吸取胰岛细胞，RPMI-1640洗涤两次备用。获取的胰岛用双硫腙染色来判断所提胰岛的纯度，胰岛细胞数=3次样品中DTZ阳性细胞团数÷3×20×样本总量(ml)。丫啶橙/溴乙啶(AO/EB)荧光染色法显示细胞活率，体外葡萄糖刺激下胰岛素释放试验检测胰岛活性。

肝素化处理：将所有与大鼠血液相接触的管道内表面均涂以肝素，所用肝素浓度为0.5μg/cm2,相当于0.1unit/cm2。

血液制备：新鲜的大鼠血液被收集于肝素化的20ml的注射器中。

体外模拟循环模型建立：该模型由长度为390mm，直径为6.3mm聚乙烯管构成，管的内表面涂以固定化的肝素，将循环管的两端通过肝素化的三腔接头连接，将循环管固定于摆动器上，并放入37℃温箱中，通过摆动模拟体内血液循环。

反应后指标检测：将反应后的胰岛行葡萄糖下胰岛素刺激试验，评价胰岛功能。大鼠血液经血常规检查，计数血小板，白细胞，淋巴细胞，单核细胞数。

组织形态学检测：反应后过滤血液，将组织块行TCT检测，观察胰岛形态变化及周围包绕细胞类型。

统计学分析：将所得数据用均值土标准差表示。t检验进行处理，P<0.05认为有统计学意义。

结果：

1.胰岛提取：平均每只大鼠可获得约500-600IEQ胰岛，经DTZ染色后，纯度>90%。胰岛活率>95%。体外葡萄糖刺激下胰岛素释放试验表明，新鲜胰岛在低糖溶液中胰岛素平均含量58.1±3.5μIU/ml，高糖溶液中胰岛素平均含量为195.2±12.61μIU/ml，释放指数(SI)为3.35±0.20，说明胰岛功能较好，对照组中胰岛在低糖下胰岛素平均含量为46.1±3.2μIU/ml，高糖下胰岛素平均含量为103.2±11.8μIU/ml，释放指数(SI)为2.25±0.18，说明胰岛功能明显受损，实验组中低糖下胰岛素释放量为53.6±3.3μIU/ml，高糖下胰岛素释放量为180.2±10.8μIU/ml，释放指数(SI)为3.36±0.18说明胰岛功能较好。

2.血液分析：对照组中血小板数为(n=10)38±14×109/L，实验组中血小板数为255±85×109/L，两组间有明显的统计学差异(p<0.05)，对照组中白细胞数为4.2±0.96×109/L，实验组中白细胞数8.1±1.19×109/L，两组间有明显统计学差异(p<0.05)，对照组中单核细胞数为(n=10)0.25±0.10×109/L，实验组中单核细胞数为0.41±0.13×109/L，两组间有明显的统计学差异(p<0.05)，对照组中淋巴细胞百分数为51.5±8.5%，实验组中淋巴细胞百分数为66.2±9.8%，两组间有明显统计学差异(p<0.05)。

3.TCT 检测：对照组中胰岛明显减少，被膜不完整，胰岛周围见大量红细胞形成的微血栓，而实验组中胰岛形态较完整，数量较多，周围无炎性细胞浸润，也未见明显微血栓形成。

结论：

1.IBMIR是胰岛移植早期胰岛损伤的主要原因。

2.应用凝血酶抑制剂阿加曲班可以有效的抑制IBMIR。

引证文献(2条)

1.赵玉娥.冯玉怀.杨丙雨 2006年中国金分析测定的进展[期刊论文]-黄金 2007(12)

2.舒永红.何华焜 原子吸收和原子荧光光谱分析[期刊论文]-分析试验室 2007(8)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_fxkxxb200601010.aspx

授权使用：湘潭大学(wfhyxtdx)，授权号：71df54c9-04b2-41f4-8790-9dc600865a18

下载时间：2010年8月2日