

塞曼石墨炉原子吸收法测定 血清中痕量铬、锰

赵瑾 孙健民 蒋守规

(河北大学环境化学研究室)

摘 要

本文为血清中痕量铬、锰的分析化验提供了一个直接、快速且准确的方法。采用Zr盐处理石墨管及L'vov平台管,以克服血基质的严重干扰。对痕量Mn和Cr的原子化行为进行了较系统的研究。并使Mn与Cr的水标准校正曲线和血样标准加入曲线斜率比近似于1,从而进一步简化了步骤。本法对血清中Mn、Cr的特征质量与检测限分别为2.82pg/0.0044A₂, 9.24pg/0.0044A₂, 0.096ng/ml(2σ), 0.147ng/ml(2σ)。我室正在应用此法对心血管疾病的临床诊断,在保定地区医院的合作下进行探索。

本文较系统地研究了人血中铬、锰含量,其目的在于为临床医学工作者提供一个可信的诊断手段和治疗依据。这两种微量元素均具有十分重要的生理功能。锰对碳水化合物、脂类的体内代谢以及人类生育繁殖都是必不可少的^[1], 锰的缺乏和过量都会导致机体失调^[2]。铬的长期缺乏可导致冠心病,体内正常的铬含量可以保证糖代谢的正常功能,防止糖尿病^[3]。

然而微量元素,特别是血中锰、铬等的正常生理浓度均在极小的ppb级范围内波动,因而从临床的角度出发,必须确保测定的准确性。准确的数据不仅对观察病情和治疗是重要的,而且对早期诊断和预防更具有积极意义。

实 验 部 份

1. 仪器

Perkin—Elmer Zeeman/5000型原子吸收分光光度计。配有HGA-500石墨炉及控制器, AS-40自动进样器, 3600微机数据处理站, Cr, Mn空心阴极灯。

2. 试剂

MnSO₄·H₂O, K₂Cr₂O₇, MgCl₂, NaCl, KCl, CaCl₂·2H₂O均为分析纯。HNO₃(超纯, 美国Alfa 87920), Triton X-100(日本KOSO chem. Co.), 实验用水均为石英双蒸馏水。

Mn贮备液的制备(1000ppm), 称取0.7693g MnSO₄·H₂O, 用1.6ml浓HNO₃溶解, 加水至250ml(HNO₃浓度为0.1M), 贮于硬质聚乙烯瓶中。

Cr贮备液的制备(1000ppm); 称取0.7072g K₂Cr₂O₇, 加石英双蒸馏水溶解、稀

释至250ml, 贮于硬质聚乙烯瓶中。

Mn标准系列(1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40ppb)的配制: 用Mn贮备液加0.1M HNO₃稀释配制, 贮于聚乙烯瓶中。

Cr标准系列(5, 10, 15, 20, 30, 40ppb)的配制: 用Cr贮备液加0.1M HNO₃稀释配制, 贮于聚乙烯瓶中。

3. 操作

血样制备: 由保定地区医院供血, 用常规法取血清置于石英管中, 在4℃冰箱内保存。

测定: 以0.2% Triton X-100 1:1稀释血清, 直接进样测定。Mn, Cr分别为25μl, 20μl, 以峰面积形式记录积分吸光度(A_i)。根据水溶液标准曲线, 直接对照计算含量。

原子吸收条件见下表。

波 长	狭缝宽度	灯电流	管类型	背景扣除	积分时间
Mn(279.5nm)	L-0.2	10mA	涂Zr热解管	Zeeman	3s
Cr(357.9nm)	L-0.7	25mA	平台热解管	Zeeman	5s

炉程序见下表。

	温度(℃)		升温时间(s)		保留时间(s)	
	Mn	Cr	Mn	Cr	Mn	Cr
干 燥	110		10		35	20
灰 化	1100		20			20
原子化	2400		0		2	4
清 除	2600		1		3	

结 果 讨 论

1. 灰化、原子化温度的选择

分别以40ppb Mn, 40ppb Cr, 进样10μl。原子化温度Mn 2500℃, Cr 2600℃, 分别用热解石墨管(Mn)和L'vov平台管(Cr)。不断改变灰化温度, 测定积分吸光度值。

水溶液Mn高于1100℃明显损失, 血清Mn高于1200℃明显损失。实验选择的Mn最佳灰化温度为1100℃。

水溶液Cr高于1400℃明显损失, 1000—1400℃基本恒定。血清Cr在1200℃明显损失。实验选择的Cr最佳灰化温度为1100℃。

上述Mn, Cr溶液在恒定灰化温度1100℃条件下, 逐渐改变原子化温度, 进行积分吸光度测定。

水溶液Mn原子化在2300—2500℃时基本稳定。血清Mn在2400℃时最佳。本实验Mn的原子化选择在2400℃, Cr在2400℃时原子化最佳。

从3600微机处理站CRT显示观察原子化信号, Cr 4s原子化全部完成, Mn 2s原子化全部完成。

2. 线性、特征质量、检测限

分别以 5, 10, 15, 20, 30, 40ppb Cr; 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40ppb Mn 配制标准系列, 绘制工作曲线。

Cr 的工作曲线在相当广的范围 (0—40ppb) 内呈现良好的线性关系。以最小二乘法处理, 得: $y = 0.0013 + 0.0093x$ ($r = 0.9999$)。Mn 的线性范围比较小, 0—6ppb 时呈良好的线性, $y = 0.009 + 0.0345x$ ($r = 0.9983$)。当浓度大于 6ppb 时工作曲线逐渐弯曲。为了扩大 Mn 的测试范围, 可以采用小体积 (5 μ l) 进样, 使线性范围扩展至 0—40ppb Mn。

Cr 与 Mn 之特征质量均为 pg 级 (表 1)。

表 1 Cr、Mn 特征质量与检测限

Table 1 Characteristic Mass and Detection Limits for Chromium and Manganese

元 素	Cr	Mn
特征质量	9.24pg/0.0044A ₁	2.82pg/0.0044A ₁
检测限 (2 σ)	0.147ng/ml	0.098ng/ml

3. 元素干扰实验

血清中与微量元素共存的宏量元素主要有 Na, K, Ca, Mg, Cl。为了检验方法的可靠性, 本实验按 NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂ 形式对 10ppb Cr, 20ppb Mn 与 2ppb Mn 进行干扰实验。

对于 10ppb Cr, 若采用管壁蒸发原子化, 只有 KCl 不干扰测定。所以我们应用 L'vov 平台蒸发原子化, 并采用峰面积积分方式记录, 成功地消除了几种共存宏量元素的干扰。20ppb 及 2ppb 的 Mn 受到的干扰较严重 (见表 2), 特别是 2ppb 的 Mn, 采用涂以 Zr 盐的石墨管并以峰面积积分方式记录, 可以消除元素干扰, 因此实验采用了涂 Zr 管测定血清中的 Mn。

表 2 锰、铬测定的干扰情况

Table 2 Interferences with the Determination of Manganese and Chromium

测定元素	原子化器	干扰情况			
		NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂
Cr (10ppb)	热解管	+	-*	+	+
	L'vov 平台	-	-	-*	-*
Mn (20ppb)	热解管	-	-	-*	-*
Mn (2ppb)	热解管	-	-*	+	-*
	L'vov 平台	-	-*	+	-*
	涂 W 管 ⁽⁴⁾	±*	±*	±*	±*
	涂 Zr 管 ⁽⁴⁾	-*	-*	-*	-*

“+”干扰离子浓度在生理浓度⁽⁵⁾范围干扰; “-”干扰离子浓度高于生理浓度时不干扰; “±”轻度干扰; “*”只在峰面积积分方式记录。

在本文所报导的条件下, 可以较理想地克服血基质中有机物和无机盐的干扰, 使

Cr, Mn水溶液校正曲线和血清标准加入曲线的斜率相当好地互相吻合。不论从作图法或是从计算结果来看均能证明这一点。

对于Cr可以得到:

$$y = 0.013 + 0.0093x \quad (\gamma = 0.9999) \text{ 水溶液}$$

$$y = 0.021 + 0.0096x \quad (\gamma = 0.9998) \text{ 血清标准加入}$$

$$\text{则斜率比 (水/血)} = \frac{0.0093}{0.0096} = 0.97$$

对于Mn可以得到:

$$y = 0.009 + 0.0345x \quad (\gamma = 0.9983) \text{ 水溶液}$$

$$y = 0.073 + 0.0337x \quad (\gamma = 0.9983) \text{ 血清标准加入}$$

$$\text{则斜率比 (水/血)} = \frac{0.0345}{0.0337} = 1.02$$

根据直接法与标准加入法测得的血样浓度也同时互相吻合。因此, 这样的条件的创造使本法可以直接应用水标液校正曲线进行血样测定。这就大大地简化了测定步骤并节省时间。

4. 精密度、准确度

同一血样连续5次测定 ($n = 5$), 得到S与CV值。Cr与Mn分别为 0.073ng/ml, 3.54%; 0.048ng/ml, 2.75%。为确证方法准确度, 进行了回收率的测定 (表3)。可

表 3 Cr、Mn回收实验
Table 3 Recovery for Chromium and Manganese

元 素	原血值* (ng/ml)	加入值 (ng/ml)	测得值 (ng/ml)	回 收 率 (%)
Cr	2.10	2.48	4.23	91.70
		3.30	5.57	103.2
		4.94	7.09	100.7
Mn	1.83	2.48	3.90	90.49
		3.30	4.64	90.10

* 血清稀释1倍

以认为, 本项工作为血清中微量元素 Cr, Mn 的测定, 提供了一个准确、快速和直接的测定手段, 可望能在医疗单位化验工作中发挥作用。

本文所用血样由保定地区医院陈世坤、蒋德森大夫提供, 特此致谢!

参 考 文 献

- [1] Leach R M, 1978. *Wor. Rev. Nutr. Diet.*, 31:223
- [2] 孔祥瑞, 1972. 必需微量元素的营养, 生理及临床意义. . 安徽科学技术出版社
- [3] Schapcott D, Hubert J, 1970. *Chromium in Nutrition and Metabolism*, Elsevier Holland
- [4] Fritzsche H et al., 1979. *Analyst*, 26:219
- [5] 北京医学院主编, 1978. 生物化学, 人民卫生出版社

ZEEMAN GRAPHITE FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRIC DETERMINATION OF TRACE CHROMIUM AND MANGANESE IN HUMAN SERUM

Zhao Jin Sun Jianmin Jiang Shougui

(Environmental Research Lab., Hebei Univ.)

ABSTRACT

The present paper reports a direct, rapid, and accurate method for the determination of trace chromium and manganese in human serum. The severe interferences of serum matrix with the analysis have carefully been circumvented by a systematic study on the atomization behaviors of the elements measured using L'vov platform tube and/or pyrolytic tube pretreated with zirconium salt, which make the slope ratio of aqueous standard working curve to that of the serum standard additions close to unity. The characteristic concentrations and detection limits for serum manganese and chromium are $2.82\text{pg}/0.0044\text{ A}$, $9.24\text{pg}/0.0044\text{ A}$, $0.096\text{ppb}(2\sigma)$, $0.147\text{ppb}(2\sigma)$, respectively. The method has been put into practice for the study on the early diagnostic purposes of cardiovascular diseases at our research lab. for a collaboration project with the Hospital of Baoding Prefecture.