

恒温平台石墨炉法测定人血白蛋白制剂中的铝

牛映斗 李长青 刘体生

(北京普析通用仪器公司原子光谱仪器部 北京 100081)

作为临床治疗用的人血白蛋白制剂,具有高效的维持机体内胶体渗透压的作用,常用于失血、创伤引起的休克等急症治疗中。由于系直接静脉注入,故对于制剂中有害元素铝的含量国家药典中有明确的限定。建立有效准确的测定白蛋白中铝含量的方法是保证制剂安全的措施之一,而石墨炉原子吸收法是测定生物物质中铝的有效方法。本文报告应用北京普析通用仪器公司生产的 TAS-990 原子吸收分光光度计以平台石墨炉法测定人血白蛋白制剂中铝的方法。

1. 仪器及试剂

1.1 仪器

TAS-990 型原子吸收分光光度计,带横向加热等温平台石墨炉;各种规格聚乙烯比色管、塑料管;微量可调移液器。

1.2 试剂

铝标准溶液:浓度 $1000 \mu\text{g/ml Al}$,购自国家标准物质中心; $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$,优级纯;Triton X-100;高纯纯水,比电阻 $18.3\text{M}\Omega/\text{cm}$ 。

2. 仪器条件

2.1 铝空心阴极灯,灯电流 5mA 。

2.2 分析波长: 309.3nm ,光学带宽 0.4nm 。

2.3 石墨炉工作条件

带全热解平台的热解涂层横向加热石墨管系普析通用公司产品,平台系全热解石墨制成,具有更高的密度和耐腐蚀耐高温性和特长的使用寿命,极适合于如铝、钼、钒等这类高温元素的测定。

人血白蛋白制剂含有 96%以上的人血白蛋白。如何有效的去除大量有机物的干扰,保证充分灰化是极为重要的测试条件。文献报导,有人作血清中铝测定时以 900°C 在灰化可保证有最高的检测峰^[1]。而更多的作者^{[2][3]}认为两步灰化法能有效去除石墨管内的炭垢,明显减少了干扰。我们经过多次测试证明两步灰化(即 600°C 和 1500°C 各保持一定加热时间)法比一步灰化更可取,而且在 TAS-990 仪器上证明最高 1500°C 的灰化温度更完全不会有任何

铝的损失！

横向平台加热使样品在等温气氛中原子化，在最大功率下原子化会形成更密集的原子云，有利于降低干扰，提高灵敏度。最终确定的加热程序如下。

序号	温度/℃	升温时间/S	保持时间/S	原子化	内气流量
1	150	10	10	否	大
2	250	10	20	否	大
3	600	10	20	否	大
4	1500	10	20	否	大
5	2300	0	2	是	小
6	2500	1	2	否	大

3. 样品测试

3.1 样品制备：人血白蛋白制剂系某药厂赠品。

样品的前处理大多采用直接稀释法。稀释剂可分为两类，一类单纯使用稀 HNO₃ 水溶液，为了防止蛋白质遇酸凝固，HNO₃ 的酸度不应大于 1%。另一类稀释剂采用混和试剂，将基体改进剂（多为 Mg(NO₃)₂，）表面活性剂（多为 Triton X-100）和稀 HNO₃ 混和而成。就蛋白样品和分析元素铝而论，混和稀释剂更可取，由于不含铝的 Mg(NO₃)₂ 和 Triton X-100 难于获得，也由于全热解平台的使用故本法采用 0.5% HNO₃ 作稀释剂。

3.2 样品测定：

为克服可能存在的干扰，本法采用标准加入法。

标准铝溶液(100ng/mL Al): 用微量可调移液器准确吸取 100μL 铝储备标液(100 μg/mL Al)，注入 100mL 容量瓶中，用 0.2% HNO₃ 溶液稀释至 100mL 刻度，摇匀。此溶液 Al 浓度为 100ng/mL。溶液保存于聚乙烯瓶中。

具体配法如下：

第一管（空白管），在 1.5mL 带盖聚乙烯离心管中加入 1.25mL 0.5% HNO₃。

第二管（样品管），在 1.5mL 带盖聚乙烯离心管中加入 0.10mL 样品（人血白蛋白制剂）和 1.15mL 0.5% HNO₃。

第三管（标准加入管），在 1.5mL 带盖聚乙烯离心管中加入 0.10mL 样品（人血白蛋白制剂），0.25mL 浓度为 100ng/mL 的铝标准溶液和 0.90mL 0.5% HNO₃。

将三管盖子盖严压紧，在高速混匀器上震荡混匀半 min,以 10 μ L 进样量石墨炉分析铝含量，调出仪器标准加入法操作程序，样品管溶液中铝浓度直接以 ng/mL 单位报告出。此报告值乘以稀释倍数 12.5 后即得到人血白蛋白制剂中铝的含量（ng/mL）。

分析结果：双份平衡样品 8 次分析结果如下：

$$\bar{x}_1 = 28.551 \quad \text{RSD} = 6.4\%$$

$$\bar{x}_2 = 31.407 \quad \text{RSD} = 8.4\%$$

$$\text{总平均值}(\bar{x}_1 + \bar{x}_2)/2 = 29.979 = 30.0(\text{ng/mL})$$

$$\text{样品中铝的含量} = 300 \times 12.5 = 375\text{ng/mL}$$

3.3 方法学检验

为验证分析方法的准确性，进行了同一样品的高温灰化—硝酸融解—标准曲线法分析铝的含量和国家标准物质“牛血清成分分析标准物质”（GBW0912）中铝含量的标准加入法分析。

灰化法：取 10.0mL 人血白蛋白制剂，注入 100mL 石英烧杯中，低温蒸干，炭化后移入高温炉，600 $^{\circ}$ C 完成灰化。灰份用少量（5mL）1+1 HNO₃ 溶解后定容 100mL，石墨炉分析。

$$\text{灰化法测定结果：} 36.54\text{ng/mL} \times 100 \div 10 = 365.4\text{ng/mL}$$

$$\text{GBW0913 铝分析结果：} 3.235\text{ng/mL} \times 12.5 = 40.4\text{ng/mL}$$

GBW0913 标样报告值（参考值）为 37ng/mL，与 40.4ng/mL 相比，两者相对误差 8.9%，在正常允许范围内。

灰化法结果 365.4ng/mL 与标准加入法结果 375ng/mL 相比，两者结果十分一致。从方法学检验证明，本测定方法准确可靠。

4. 注意事项：

生物物质中微量铝测定的难点在于污染！铝是一个常见元素，存在与分析场所的环境（空气、水、试剂、所有容器量器等）中。因此所有试剂应尽量纯净，所有容器应用 10% HNO₃ 或 1% EDTA 浸泡 24h 后用超纯水冲净，晾干。微量移液器取液尖亦应如此处理。

参考文献

[1]郭金兰：无火焰原子吸收法测定尿毒症病人血清中铝含量。江西医学检验，2000 年 12 月，第 15 卷第 4，211-213。

[2]张向东：石墨炉原子吸收光谱法测定人体血清铝。光谱实验室，1996 年第 13 卷的第 2 33-36

[3]leung.F.Y.and Henderson,A.R. At.Spectrosc.,4,1~4,1983.

