



脉冲进样火焰原子吸收法直接测定人体全血中的镁锌铜铁钙

摘要：采用一种微量脉冲进样器，利用其能控制进样时间来采集样品量进样的方式，在火焰原子吸收法测定全血中的 5 种微量元素，此方法分析速度快，灵敏度高，样品消耗量少。而且有别与其他脉冲进样装置，进样体积准确，操作简便易于控制。不仅用于全血微量测试，而且对于其它需要微量进样测试均适用，通用性强。通过实验探讨了进样体积，提升量的等影响因素，对于全血测定镁锌铜铁钙的回收率分别为 105.91%、107.52%、100.25%、97.28%、107.63%。相对标准偏差分别为 1.70%、2.04%、3.80%、3.71%、2.83%。

关键词 脉冲进样器，火焰原子吸收光谱法，人体全血，镁、锌、铜、铁、钙。

概要

人体中的微量元素与健康具有密切的关系，血液中微量元素含量指标能及时反映人体健康水平，测定其含量能够为疾病临床诊断，治疗提供科学准确的信息，在生命科学中具有重要意义。本法是采用东西分析仪器公司的专用全血稀释液直接稀释人体全血，利用东西分析仪器公司生产的脉冲进样器直接在原子吸收光谱仪上测定分析，其优点在于直接稀释血液，免去了样品消化处理过程减少操作过程和试剂的消耗，取样体积小，减少病人抽血时的疼痛，分析测定快速，准确，灵敏度高。

仪器与试剂

仪器及设备

AA7003M 原子吸收分光光度计（北京东西分析仪器有限公司），Cu、Zn、Fe、Mg、Ca 五元素复合空心阴极灯（北京有色金属研究院）。无油空气压缩机（0—0.6Mpa），5—50ul 可调微量吸液器，脉冲进样器（北京东西分析仪器有限公司）。

试剂

全血分析专用五元素混合标液及全血稀释剂（北京东西分析仪器有限公司）。硝酸（GR），水为去离子水（电阻率在 10 兆欧以上），酒精（GR），脱脂棉。

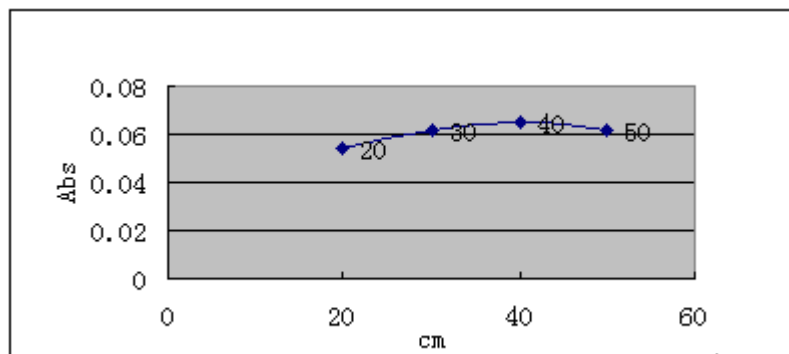
脉冲进样器装置：

脉冲进样器：一根长 40cm 的硅橡胶管（内径 0.8mm）和一根长 10cm 的聚乙烯管（内径为 0.5mm）直接连接即可，10cm 的细管的另一端与雾化器连接。通过利用电磁阀通断时间长短来控制进样量分析，采用峰高法或峰面积法采集数据的方式。控制方式为软件设定开阀时间进行充样，充样完毕自动关断阀门，接着点击采样键，开阀进样完成测定的分析。

脉冲进样管长度实验

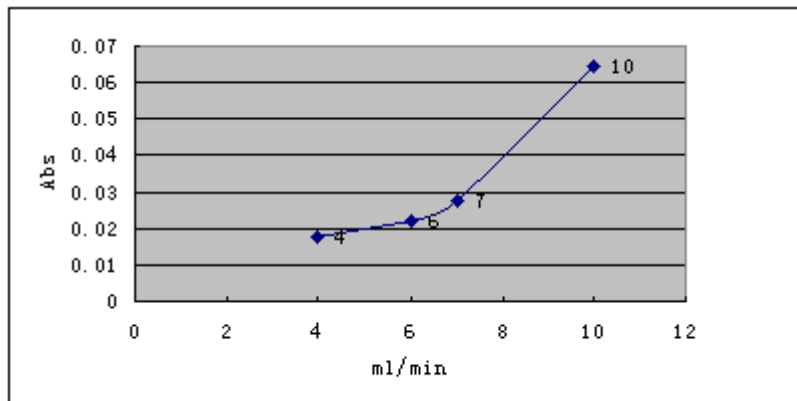


用 0.15mg/L 铜标准溶液使用进样管长度依次是 20, 30, 40, 50 cm 进行测定溶液的吸光度值（每一个长度平行测定了 7 次取其平均值），其吸光度值随长度的增加而增大。当长度达 40cm 时值最大，50cm 时开始减小，因此通过实验选定进样管长度为 40cm。



提升速率实验

通过实验条件的选择，提升速度 6—7ml/min，在此条件下与常量进样的标准曲线斜率基本相同，灵敏度相对接近。其精密度和线性范围满足测定人血中五种元素的分析要求。且测定这五种元素一次总消耗样品量在 700ul 左右，而我们的样品溶液为 1.2ml 满足血液中微量元素进样测试的要求。没有选择更高的提升量，均是基于以上的实际情况而确定的。



五元素分析测试条件 表 1

元素	提升量	脉冲进样时间 (S)	采样时间 (S)
Zn	6---7ml/min	1	6
Mg		0.3	
Cu		2	
Fe		0.3	
Ca		2	

五元素混合标液浓度 表 2



元 素 标 样 号	0	1	2	3
铜(mg/L)	0.00	0.05	0.10	0.15
锌(mg/L)	0.00	0.10	0.25	0.40
铁(mg/L)	0.00	5.0	15.0	25.0
镁(mg/L)	0.00	0.50	1.00	2.00
钙(mg/L)	0.00	1.00	2.00	3.00

样品的采集与处理:

将被采血者手指末梢部先用 75% 的酒精棉球消毒^[2]，后用 0.1% HNO₃ 棉球擦拭，用一次性刺血针针刺，并擦掉第一滴血，然后用一次性医用定量玻璃管吸取 40μL 手指末梢血，加入装有 1.16ml 稀释剂的一次性小离心管中，稀释 30 倍，轻轻摇匀，备用。

仪器测试基本条件:

表 3

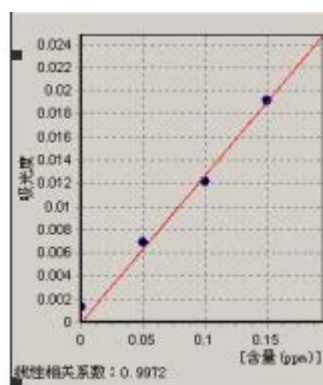
元素	铜 (Cu)	锌 (Zn)	钙 (Ca)	镁(Mg)	铁(Fe)
波长 (nm)	324.7	213.9	422.7	285.2	248.3
狭缝 (nm)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
空气压力 (Mpa)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
燃气流量 (l/min)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
火焰高度 (mm)	7	7	7	7	7
定量方法	峰高	峰高	峰高	峰高	峰高
校准曲线	一次不过零	同 Cu	同 Cu	同 Cu	同 Cu

校正曲线测定

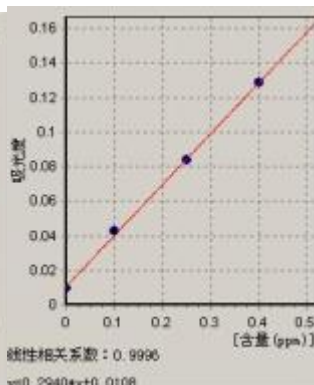


在上述实验条件下进行测试，标准曲线线性良好，曲线的相关系数 r 值均在 0.997 以上。

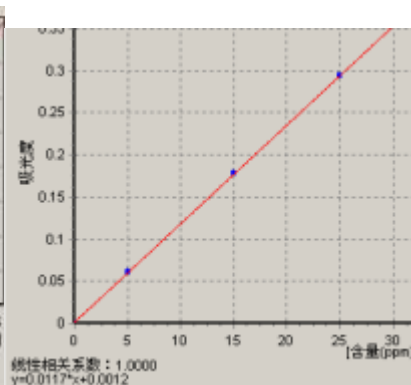
Cu



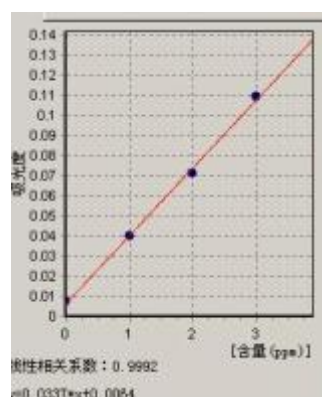
Zn



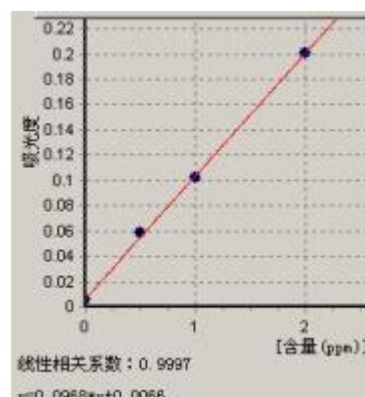
Fe



Ca



Mg



方法准确度及精密度

因缺少全血标样，本实验采用与常规法 FAAS 互相检验，以及测定样品的加标回收率来考核方法的准确度。

本法与常规 FAAS 测定全血锌结果比较 $\bar{x} \pm s$ (mg/L) (此测量值为稀释 30 倍后的实测浓度)

表 4

方法		$\bar{x} \pm s$	t	p
本法	0.2672, 0.2784, 0.2720, 0.2692, 0.2756 0.2652, 0.2648, 0.2835, 0.2760, 0.2823	0.2734±0.0068	0.6212 < t _{0.05,18} > 0.05	
常 规 FAAS	0.2772, 0.2748, 0.2707, 0.2678, 0.2695 0.2718, 0.2676, 0.2670, 0.2764, 0.2760	0.2719±0.0039		

本法与常规 FAAS 测定全血铜结果比较 $\bar{x} \pm s$ (mg/L) (此测量值为稀释 30 倍后的实测浓度)

表 5



方法		$\bar{x} \pm s$	t	p
本法	0.0227, 0.0227, 0.0227, 0.0184, 0.0195, 0.0206, 0.0216, 0.0206, 0.0216, 0.0206	0.0211 ± 0.0014	0.1565 < t _{0.05, 18} > 0.05	
常 规 FAAS	0.0223, 0.0223, 0.0206, 0.0206, 0.0223, 0.0223, 0.0206, 0.0197, 0.0189, 0.0206	0.0210 ± 0.0012		

本法与常规 FAAS 测定全血钙结果比较 $\bar{x} \pm s$ (mg / L) (此测量值为稀释 30 倍后的实测浓度)

表 6

方法		$\bar{x} \pm s$	t	p
常 规 FAAS	1.5157, 1.4933, 1.5874, 1.5247, 1.5157 1.5202, 1.5112, 1.5112, 1.5202, 1.5112	1.5211 ± 0.0248	0.2728 < t _{0.05, 18} > 0.05	
本法	1.5423, 1.4975, 1.4876, 1.5174, 1.5373 1.4876, 1.5373, 1.5025, 1.5672, 1.5025	1.5179 ± 0.0269		

本法与常规 FAAS 测定全血镁结果比较 $\bar{x} \pm s$ (mg / L) (此测量值为稀释 30 倍后的实测浓度)

表 7

方法		$\bar{x} \pm s$	t	p
本法	1.3330, 1.3490, 1.3387, 1.3295, 1.3341 1.2632, 1.2941, 1.3227, 1.3513, 1.3055	1.3221 ± 0.0273	0.5365 < t _{0.05, 18} > 0.05	
常 规 FAAS	1.3357, 1.3276, 1.3168, 1.3267, 1.3312, 1.3213, 1.3493, 1.3430, 1.3159, 1.3051	1.3273 ± 0.0133		

本法与常规 FAAS 测定全血铁结果比较 $\bar{x} \pm s$ (mg / L) (此测量值为稀释 30 倍后的实测浓度)

表 8

方法		$\bar{x} \pm s$	t	p
本法	20.2135, 20.6854, 20.1011, 20.5843, 20.1573, 19.5506, 19.8202, 21.1798, 21.5169, 19.6180	20.3427 ± 0.6490	0.6911 < t _{0.05, 18} > 0.05	
常 规 FAAS	20.4638, 19.9710, 20.1884, 20.1739, 20.1014, 20.0580, 20.5217, 19.9565, 20.0870, 20.4203	20.1942 ± 0.2045		

全血样标准加入法测定回收率 表 9



测定元素	Cu	Zn	Fe	Mg	Ca
稀释后血样的浓度 /ug/mL（此值为稀释 30 倍后的浓度）	0.0310	0.2159	19.2267	1.6130	1.678
加入浓度/ug/mL	0.0400	0.2500	38.0090	1.0000	1.0000
测得浓度/ug/mL	0.0711	0.4847	56.2000	2.6721	2.7543
回收率%	100.25	107.52	97.28	105.91	107.63
精密度%	3.7975	2.0438	3.7178	1.6977	2.8302

根据上述两种方法实验对比检验，以及测定样品进行加标测回收率的方法考核方法准确度。

1 样品加标回收率

全血样品中加入一定量的对应的标样，对于 Mg，Zn，Cu，Fe，Ca 五种元素的脉冲方式回收率均在 100%附近。回收率较好。RSD%在 4%以下。

2 与常规 FAAS 比较测定结果间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

讨论

通过以上实验数据以及查看相关脉冲进样文献，此方法对于测定样品量少的元素分析非常适用。可以利用其分析灵敏度高，线性范围宽的特点，通过进入微量体积的样品来分析血液中的微量元素。由于采用微量进样采集峰高信号，在同一浓度样品溶液或是标准溶液其 RSD%虽略差于连续进样测定时精密度，但脉冲进样精密度还是可以接受的，而且通过数据统计的检查，脉冲进样法与连续进样法两则测定结果无显著性差异。在测定时对于稳定性不好的元素分析时，我们可以延长进样时间增大样品的消耗量来进一步的改善 RSD%。本方法是在普通的单道原子吸收光谱仪上进行测定，无须对仪器进行改装，方便用户使用，不象五通道的原子吸收光谱仪和快速顺序扫描式原子吸收光谱仪那样是专门的仪器，通用性差。从进样量上来说，如果采用连续进样的方法，在提升量为 6ml/min 下，测定 1 个元素从吸入进样管到出现稳定的吸光度值，按照积分时间 1 秒算，也要消耗 1ml 的样品，这远高于我们在脉冲进样方式下测定 5 个元素消耗不到 1ml 的样品量。因此这种进样方式在对于一些贵重和微量样品分析，具有很大的应用价值。

结论

- 1 它不用定量环定量，而是由软件控制电磁阀开关时间来控制，而且定量体积还可自由改变。能够满足不同的元素条件要求。灵活可变。
- 2 采样过程中已完成了清洗的操作，省时省力。降低记忆干扰。
- 3 样品消耗量最小为 50ul 进样量，准确性，精密度较高。特别适合生物样品的分析。

参考文献



- 1 唐晓凤 。 脉冲雾化火焰原子吸收法测定人耳微量全血中的锌 。微量元素与健康研究 2001 年第 18 卷第 3 期
- 2 高双斌,龚书明.快脉冲雾化火焰原子吸收法测定血清中七种金属元素.中国卫生检验,1994,4(4):198~201
- 3 节流脉冲火焰原子吸收技术在血清微量金属元素测定中的应用研究 。预防医学文献信息 2001 年 2 月第 7 卷第 1 期
- 4 Determination of Calcium and Magnesium in Blood Serum by Automated Flame Micosampling VARIAN INSTRUMENTS AT WORK Number AA-15 April 1981
- 5 Determination of Lithium,zinc and Copper in Blood Serum by Flame Micosampling VARIAN INSTRUMENTS AT WORK Number AA-16 August 1981
- 6 李绍南.少量样品快脉冲火焰原子吸收光谱分析[J].分析化学,1982,10(6),376.