

客户文章分享

原子吸收光谱

作者:

毛云中

凌霞

宋振威

江苏省无锡市

疾病预防控制中心

石墨炉原子吸收光谱法测定全血中钴含量

摘要

目的 建立测定血中钴含量的石墨炉原子吸收法。

方法 样品中加入少量硝酸和过氧化氢进行消解后^[1]，以 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、曲拉通-100 作为基体改进剂，石墨炉原子吸收光谱法进行测定。

结果 线性范围 0~10 $\mu\text{g/L}$ ，相关系数 0.9995，检出限 0.548 $\mu\text{g/L}$ ，回收率 96.89%~98.01%，RSD 为 7.11~9.95%。

结论 该方法背景干扰低、稳定性好，测量结果准确可靠，可以用于血钴的测定，适合大批量样品的测定。

目前国内对人体中的血钴含量测定还没建标准方法，对于钴作业人员和正常人的血钴含量调查均需要建立检测方法。本文采用石墨炉原子吸收法测定全血中的钴含量，并已应用到批量钴接触人员血钴的检测。

钴作为人体的必须微量元素，具有重要的生理作用，同时过量的钴对人体健康也有不利的影响，如：工业接触导致中毒，单质钴及其同位素在机械、冶金、化工等行业应用日益广泛，造成钴污染随之增加；啤酒生产中常加入钴盐作为稳定剂，1965 年以来加拿大和美国人长期饮用加入钴的啤酒后心肌病患者相继出现，停止加钴一个月后不再有新病人^[2]；在医疗上，使用钴治疗贫血时大剂量使用后会导导致尿卟啉症等。

1 实验部分

1.1 仪器 PE-800 石墨炉原子吸收分光光度计（美国 PerkinElmer），钴空心阴极灯，AED-01 型自控电热消解器（北京博瑞赛公司）。

1.2 试剂 钴标准储备液：1000 mg/L（国家标准物质中心）。钴标准使用液：由标准储备液用 1%硝酸溶液稀释成 50 μg/L 钴标准使用液。超纯水：华晶集团制造集成电路用水。硝酸：MOS 级（上海国药集团）。30%过氧化氢：MOS 级（上海国药集团）。

1.3 实验步骤

1.3.1 血液采集 将采血管放入 30%硝酸溶液中浸泡过夜，取出后冲洗数次，晾干。加入 0.1mL 2%肝素钠水溶液，置于 75%真空干燥箱中烘干，封口，备用。抽取静脉血后封口，混匀，低温保存并尽快测定。

1.3.2 样品前处理 使用 1000 μL 微量移液器取 1000 μL 血样于 5mL 刻度管中，放入自控电热消解器中 120℃加热约 120min 至血样呈浅黑色。放冷后，加入 0.75mL 硝酸，放入消解器中 80℃加热 45min，加入 0.2mL 过氧化氢，继续消化 20min。消化完成后，升温至 150℃赶酸，近 0.3mL 时加少量纯水，重复两次，冷却后定容至 1mL，溶液应呈淡黄色，同时取不含钴的牛血作为空白。

1.3.3 标准曲线制作 标准曲线范围 0-10.0 μg/L。按 1.3.2 消化 5 支不含钴的牛血，赶酸后，加入标准使用液配制成 0, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 μg/L 钴标准系列，绘制标准曲线。

1.3.4 样品测定 将消化液转移至进样杯中，由自动进样器加样 20 μL，测定其浓度。测得的结果减去空白后即是样品中钴的浓度。

1.3.5 仪器条件 波长 240.7 nm，狭缝 0.2L，灯电流 30 mA，高纯氩气，计算方式：峰面积，信号方式：背景校正(塞曼效应扣背景)，石墨管类型：原装热解平台石墨管，进样 20 μL，石墨炉加热程序见表 1。

表 1 石墨炉加热程序

步骤	温度 (°C)	斜坡时间 (s)	保持时间(s)	载气流量 (mL/min)	气体类型
干燥 1	110	20	10	250	Normal
干燥 2	150	10	30	250	Normal
灰化	1400	30	20	250	Normal
原子化	2200	0	5	0	Normal
净化	2450	1	3	250	Normal

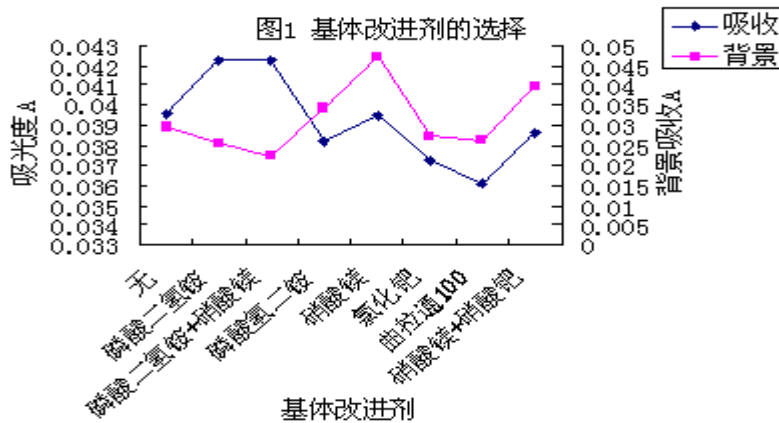
结果与结论

2.1 消化方式选择

本文比较了微波消解、微量酸消化、湿法消化、干灰化法、离心法^[3]，其中微波消解具有溶样时间短、耗能低、试剂用量少、污染轻、防止组分损失的特点，但不适用于大量样品的测定，可用于超标样品的复测；干灰化法能耗率高，样品容易污染，回收率较低，不适用于血中钴的前处理；离心法操作简单、污染少，但对于钴的测定，回收率不理想；微量酸消化具有取样量少、用酸量少、稀释倍数少、成本少、适于大量样品的测定等特点，需要注意的是：5mL 试管刻度的准确性，使用前应进行 1mL 的校准，或选用 5mL 尖底刻度管时可以增加其精密性；温度增加不宜太快，防止由于受热不均而产生暴沸；定容后有可能出现少量白色沉淀，如果出现沉淀应以 3000 转/分转速进行离心。通过标准物质分别测定各种前处理的回收率发现只有微波消解(93.92%~104.9%)、微量酸消化(96.89%~98.01%)的回收率可以达到要求，但微波消解不适合大批样品的测定，所以选择微量酸消化作为前处理方法。

2.2 标准曲线范围选择 全血中的钴含量由于受各种因素影响，不同地区、不同方法所报的参考值范围不一，使用石墨炉原子吸收法进行测量，发现正常人的血中钴含量较低，据报道非职业接触钴的个体，血液中钴的含量低于 2 μg/L^[4]，所以选择标准曲线范围 0-10.0 μg/L。

2.3.1 基体改进剂的选择 本实验中选用磷酸二氢铵、磷酸二氢铵+硝酸镁、磷酸氢二铵、硝酸镁、氯化钡、硝酸镁+硝酸钡混合溶液作为基体改进剂。经过对比 20g/L 磷酸二氢铵作为基体改进剂效果最好。同时加入第二基体改进剂曲拉通 100^[5]，可以防止“暴沸”现象出现。



2.3.2 基体改进剂用量的选择

以 20g/L 磷酸二氢铵作为第一基体改进剂，选择 2-10 μL 范围进行比较第一基体改进剂的效果，加入 10 μL 时重现性较好。所以磷酸二氢铵的用量选择 10 μL，第二基体改进剂曲拉通—100 用量为 6 μL。

2.4 灰化温度的选择

灰化温度选择 1100-1500 °C 进行测定消化的血样，结果如图 2。实验表明在灰化温度在 1400°C 时灵敏度较好，且背景吸光度低，可以有效的去除干扰，所以选择 1400°C 作为灰化温度。

2.5 原子化温度的选择

原子化温度选择 2000-2400 °C 进行测定，结果如图 3，吸光度在 2200 °C 后开始下降，背景吸收 2200°C 后趋于平稳，而 2000 °C 时吸收峰较宽，有拖尾现象，所以原子化温度选择 2200 °C。

2.6 工作曲线及检出限

本法对 0.0—10.0 μg/L 范围内钴的测定呈良好的线性关系，标准曲线回归方程为 $y = 0.0077x + 0.0001$ ，相关系数为 0.9995，检出限为 0.548 μg/L。

2.7 准确度与精密度实验

样品中分别增加 2.0、5.0 μg/L 钴标准，用本方法消解后平行测定 8 次，其回收率见表 2，回收率范围 96.89%~98.01%。其中相对标准偏差较高是由于定容至 1mL 的偏差引起。

表 2 回收率的测量

样品增加钴标准 量(μg/L)	样品中钴含量 (μg/L)	测量均值 (μg/L)	回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
2.0	0.2657	2.2035	96.89	9.95
5.0		5.1662	98.01	7.11

2.8 干扰实验

分别加入 1 μg 血液中常见的几种离子 K、Na、Ca、Mg、Mn、Fe、Zn、Cu、Cl⁻、PO₄³⁻，定容至 1mL（相当于 1mg/L），经过测定，两者测定值没有显著性差异，故血钴的测定不受这几种离子的影响。

3 结论

该方法操作简单，背景干扰低，结果准确可信，成本低，易于普及，可以为疾病诊断及健康检查提供可靠的依据。

参考文献：

- [1] 张源 等 微量酸消化-石墨炉原子吸收光谱法测定大鼠组织中的钴[J]。分析化学研究简报，2004，11（32）：1498-1500
- [2] 李洪益 重要的微量元素钴[J] 微量元素与健康研究 2004，2：61-62
- [3] 张宜明，俞锡林，丁华 全血铅测定的前处理优化与质控检测[J]。中国卫生检验杂志，2007，17（2）：250-251
- [4] 杨克敌.微量元素与健康[M].杨克敌主编.第一版.北京:科学出版社,2003:151.
- [5] 余晓刚,邹向宇,余晓丹,等.血铅塞曼石墨炉原子吸收光谱法测定[J].中国公共卫生,2007,23(10):1278.

PerkinElmer, Inc.

大中华区总部
地址：上海张江高科园区李冰路67弄4号
邮编：201203
电话：(021) 3876 9510
传真：(021) 387 91316
www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表，请访问 <http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

©2009 PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer徽标和外观设计是PerkinElmer的注册商标。文中提及的其它非PerkinElmer及其子公司所有的其它商标均为其各自所有者的财产。PerkinElmer保留随时更改此文档的权利，恕不另行通知。对于编辑、图片或排版错误概不承担任何责任。