

原子吸收

作者

Cynthia Bosnak

PerkinElmer, Inc.

Shelton, CT 06484 USA

在临床检验应用中 采用横向加热技术 石墨炉和塞曼效应 背景校正测定 血中铅

前言

在临床检验应用中能够准确检测出血中铅含量的仪器是保障职业安全和公共卫生的可靠支持。美国疾病预防控制中心（CDC）规定血中铅含量不得高于 $10 \mu\text{g/dL}$ ^[1]。但是，目前还不知道究竟血中铅浓度达到多少会对人体产生危害，在临床检验应用时能够提供准确数值和精确测量的仪器也是很重要的。

临床检验测定全血一般采用石墨炉原子吸收光谱法（GFAAS）。GFAAS具有成本效益，其检出限远低于CDC规定血铅浓度水平，而且相比于其他更先进的元素分析技术，GFAAS对操作人员的要求更低^[2]。在本研究中，我们将对使用恒温平台石墨炉（STPF）和横向加热石墨管（THGA）技术的PerkinElmer® PinAAcle™ 900T原子吸收光谱仪在临床检验中测定血液样品中铅含量的应用性进行验证。试验为了简化和减少分析时间，没有使用与样品基体匹配的血液标准和标准加入法制作校准曲线，而采用水标准溶液。

实验

试剂准备

所有试剂、标准和样品均采用ASTM®I类去离子水(18 MΩ • cm) 配制。浓硝酸 (HNO₃) (69-70%) 为痕量金属级或更高[3]。

- 10% Triton® X-100储备液：直接在125mL LDPE瓶中称取10克Triton® X-100润湿剂(Part No. N9300260)，去离子水定容至100克，摇匀。
- 自动进样器清洗溶液：保证2L的自动进样器清洗瓶中一直有去离子水，加入4mL浓硝酸和100 μL10% Triton® X-100溶液，摇匀。
- 稀释剂/基体改进剂溶液：吸取1mL10%磷酸二氢铵 (NH₄H₂PO₄，基体改进剂(Part No.N9303445))，加入到60mL LDPE瓶中，然后加入2.5 mL10% Triton® X-100储备液和0.1 mL浓硝酸，最后用去离子水稀释至50mL。
- 1% HNO₃溶液：在1L塑料容量瓶中先加入大约500mL去离子水，然后加入10mL浓硝酸，去离子水稀释定容至刻度。
- 标准溶液中间液(10 mg/L)：吸取1mL1000mg/L铅标准溶液储备液(PerkinElmer Pure, Part No. N9300175)到125mLLDPE瓶中，用1% HNO₃定容至100g。每月配制。

标准溶液配制和样品处理

在4个干净的100mL塑料瓶中分别加入1, 2, 4, 6 mL10 mg/L的标准溶液，然后用1% HNO₃稀释定容至刻度，则配制的二级标准溶液浓度分别为100, 200, 400, 和 600 μg/L。

校准曲线标准溶液：在4个1.2 mL干净的自动进样器样品杯中分别吸取上述二级标准溶液各100 μL，然后各加入900 μL稀释剂/基体改进剂溶液。在自动进样器样品杯中用移液器枪头反复吹打5-10次以完全混匀样品杯中的溶液。空白溶液的配制使用1% HNO₃溶液按相同步骤进行。

样品使用NIST®山羊血中微量元素(SRM 955c)和LyphoChek全血金属对照浓度1、2、3 (BioRad, 加州Hercules)。在1.2 mL自动进样器样品杯中直接吸取100 μL样品和900 μL稀释剂/基体改进剂溶液，照上述方法混匀。

仪器条件

实验所有的测量都使用PinAAcle 900T火焰和纵向塞曼石墨炉原子吸收光谱仪。光源使用PerkinElmer Lumina™ Pb单元素空心阴极灯(Part No. N3050157)，气体类型为氩气。PinAAcle 900T的仪器设置列于表1，所有样品测定的石墨炉程序列于表2。



图1. 配置AS 900石墨炉自动进样器的PinAAcle 900T原子吸收光谱仪

表1. PinAAcle 900T仪器设置

参数	数值
波长:	283.3 nm
狭缝:	0.7 nm
灯电流:	10 mA
积分时间:	4 s
校准曲线类型:	线性过零点
重复次数:	2
标准溶液单位:	μg/dL
样品单位:	μg/dL
进样体积:	12 μL
BOC:	2 s

表2. 使用带有THGA 石墨管 PinAAcle 900T测定血液样品中Pb元素含量时的石墨炉升温程序

步骤	温度 (°C)	升温时间 (sec)	保持时间 (sec)	氩气流量	读数	气体类型
1	120	5	10	250		Normal
2	140	5	10	250		Normal
3	200	10	10	250		Normal
4	700	10	20	250		Normal
5	1500	0	4	0	X	Normal
6	2450	1	3	250		Normal

*注入温度: 110 °C

实验分析测试全部使用集成平台的标准热解涂层THGA石墨管 (Part No. B0504033)。THGA石墨管独有的专利设计能够对包括高温元素在内的所有元素进行稳定的加热和高效的雾化。石墨管和集成平台由一块PerkinElmer专有的高密度石墨加工而成。石墨管横向加热保证了温度沿管均匀分布，因此显著降低了基体成分的凝结和记忆效应。纵向塞曼效应背景校正没有光损失的情况下提供了准确的校正，而横向塞曼系统则会造光的损失。

PinAAcle 900T装配的TubeView™石墨炉摄像头被用来将进样针调整到最合适的深度 (图2a)，同时观察平台上是否有基体沉积。建立方法时，摄像头也被用在观察干燥步骤是否发生样品沸腾或飞溅 (图2b)。

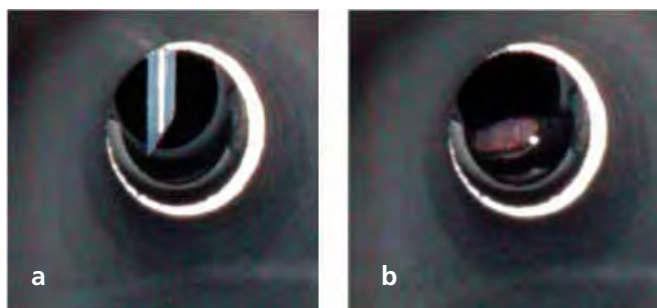


图2. a) 使用TubeView 石墨炉摄像头观察AS 900自动进样器进样针的位置调整; b) 建立方法时观察THGA石墨管内空白样品

结果和讨论

分析血液中的Pb使用水标准溶液制作校准曲线比使用标准加入法要方便的多。使用水标准溶液法相比于标准加入法或基体匹配标准法减少了操作者犯错的机会、花费更少、分析时间更短4。图3是PinAAcle 900T测定的水标准溶液 (红色) 和血标准物质 (蓝色) 中铅峰型图的叠加图。正如预期一样，在血液基体中，Pb的挥发要比在水标准溶液中延后。但是，由于使用了STPF，所有的Pb原子都在一个稳定的温度环境中挥发，与出现时间无关。因此，在原子吸收过程中，每个Pb原子都发挥了相同的作用，因此使用简单的水标准溶液也能得到准确、精密的结果。

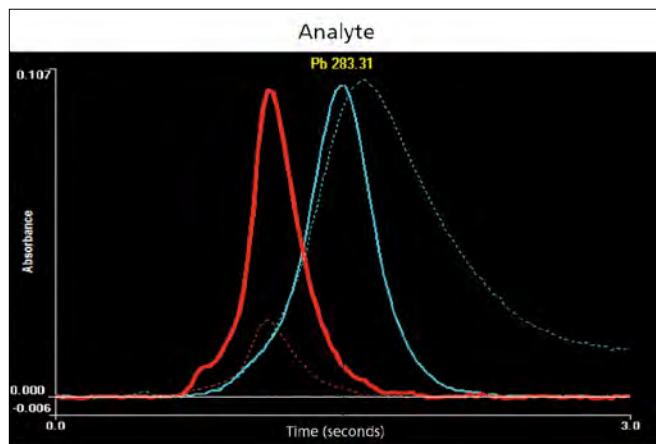
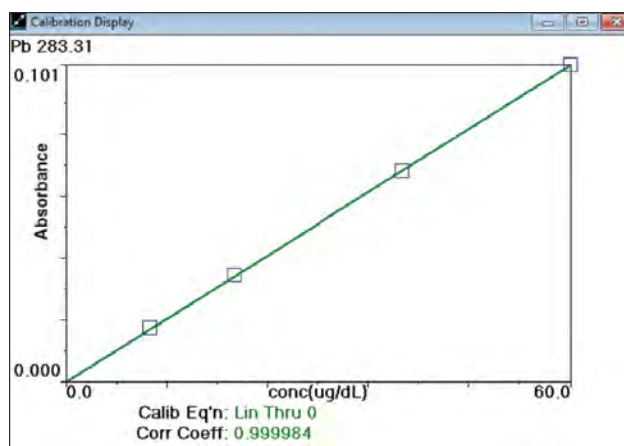
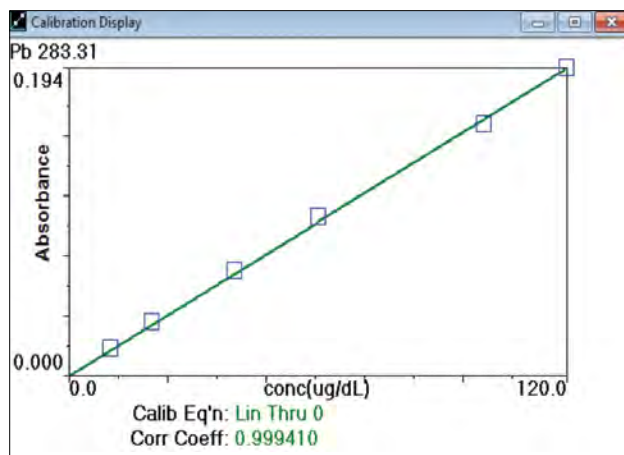


图3. 水标准溶液 (红线) 和血标准物质 (蓝线) 的叠加图。实线是校正空白后的分析信号 (AA-BG); 虚线是背景信号 (BG)。



a



b

图4. a) Pb线性校准曲线，最大浓度为60 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 。

B) Pb线性校准曲线，最大浓度为120 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 。

虽然本实验校准曲线最大浓度做到60 $\mu\text{g/dL}$ (图 4a), 但是研究发现仪器的线性可达到120 $\mu\text{g/dL}$ 或者更高(图 4b)。这就为分析高浓度样品时减少稀释倍数提供了一种方法。多次测定血液稀释溶液得到的检出限约为0.23 $\mu\text{g/dL}$ (3SD)。

由表3可见, 测定4个浓度的NIST®标准物质955c-山羊血中有毒金属的回收率在98-102%范围内; 而由表4可见, 测定3浓度BioRad LyphoChek比对样品的回收率在100-106%范围内。所有实验结果均在标准物质推荐的范围内。

表3. 使用水标准溶液和石墨炉原子吸收测定NIST® SRM 955c的结果

样品	推荐值 ($\mu\text{g/dL}$)	实验值 ($\mu\text{g/dL}$)	回收率 (%)
浓度1	0.424 \pm 0.011	0.431	102
浓度2	13.950 \pm 0.080	13.8	99
浓度3	27.76 \pm 0.16	27.6	100
浓度4	45.53 \pm 0.27	44.8	98

表4. 3浓度BioRad LyphoChek比对样品结果

样品	推荐值* ($\mu\text{g/dL}$)	范围 ($\mu\text{g/dL}$)	实验值 ($\mu\text{g/dL}$)	回收率 (%)
浓度1	9.58	7.67-11.5	9.83	103
浓度2	27.7	22.2-33.3	29.4	106
浓度3	54.0	43.2-64.8	54.0	100

* BioRad推荐值^{*}是其他实验室使用ICP-MS测定的平均值。

AS 900自动进样器的使用保证了样品传输的准确性。AS 900自动进样器探针在分析时不需要为了防止高浓度样品对后续样品的残留污染而进行任何清洗或维护。而且能够在需要时对超过校准曲线范围的样品进行自动稀释。

结论

本文介绍了如何利用我们的仪器在临床检验中测定血中Pb含量的实例。通过使用带有恒温平台石墨炉(STPF)、石墨炉横向加热 (THGA) 系统的PinAAcle 900T原子吸收光谱仪, 使得临床检验中快速、准确测定Pb成为可能。较宽的线性范围既能满足测定远低于临界值10 $\mu\text{L/dL}$ 的样品, 也能满足临床和研究中测定较高浓度的需求。PinAAcle 900T原子吸收光谱仪非常适合临床检验测定血中铅含量。

参考文献

1. "Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopic Measurements of Blood Lead in Matrix-Matched Standards", Bannon, D.I., Murashchik, C., Zapf, C.R., Farfel, M.R., Chisollm, J.J. Jr. Clinical Chemistry • Automation and Analytical Techniques, Vol. 40, No. 9, pp. 1730-1734, 1994.
2. "An Assessment of Contemporary Atomic Spectroscopic Techniques for the Determination of Lead in Blood and Urine Matrices", Patrick J. Parsons, Ciaran Geraghty, Mary Frances Verostek, Spectrochimica Acta Part B, Vol. 56, pp. 1593-1604, 2001.
3. "Blood Lead Determination by Electro-thermal Atomization Atomic Absorption Spectrometry with PerkinElmer 4100ZL AAS", New York State Department of Health, May 19, 1992.
4. "A Rapid Zeeman Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometric Method for the Determination of Lead in Blood", Patrick J. Parsons and Walter Slavin, Spectrochimica Acta, Vol. 48B, No. 6/7, pp. 925-939, 1993.

PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器(上海)有限公司
地址: 上海张江高科园区李冰路67弄4号
邮编: 201203
电话: 800 820 5046 或 021-38769510
传真: 021-50791316
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>

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。