

④ 317-320

微波消解法在全血样品分析中的应用

马悦红¹, 常旭红¹, 刘买利^{1,2}

R446.11

(1. 西北大学 分析测试研究中心, 陕西 西安 710069; 2. 中国科学院 武汉物理与数学研究所, 波谱与原子分子物理国家重点实验室, 湖北 武汉 430071)

摘要:报道了应用 MDS-9000 型微波消解系统消解全血样品的实验方法, 并且用原子吸收光谱法测定了全血中 Ca, Mg, Cu, Fe, Mn 和 Pb 6 种元素的含量。与传统湿法消解方法相比, 微波消解法具有快速、高效和试剂消耗少等优点。

关键词:微波消解; 湿法消解; 全血分析; 原子吸收光谱

中图分类号: O646 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-274 X (1999)04-0317-04

微波消解法是 80 年代以后出现的样品分解方法。目前, 该方法已被广泛地用于生物、植物、地质、冶金等样品的分析^[1]。微波溶样技术在生物样品分析中的应用尤为引人注目, 借助这种方法可以快速溶解头发^[2]、血液^[3,4]、脑组织和脏器官^[5]、骨骼^[6]等多种生物样品。微波溶样的优点源于: ①在密闭容器内获得的高温和高压导致的快速化学反应; ②通过调节微波功率可以精确控制反应条件。因此, 微波消解法更适用于自动化^[7]。

全血样品中无机元素的分析可以通过两种途径实现: 一是以 TritonX-100 水溶液或去离子水直接稀释血样后测定^[8]; 二是通过传统的干法(灰化法)、湿法(消化法)或微波消解法将血样完全消解后测定^[9]。由于全血中含有大量碱金属、碱土金属盐类和蛋白质等, 故直接稀释后测定的干扰较多。文献中的全血微波消解方法操作复杂、不利于分析大量样品。本文对全血样品的微波消解实验条件进行了研究, 获得了一套理想的微波消解条件组合, 从而简化了实验步骤, 使之同时适用于测定血液中的常量、半常量和微量元素的分析。

1 试剂与仪器

MDS-9000 微波消解系统。

Z-8000 原子吸收分光光度计(日立, 日本)。

基体改进剂:

1.0 mg/mL 氯化镧溶液(用于 Ca, Mg 的测定)。

1%磷酸氢二铵。其他化学试剂如硝酸, 盐酸等均为优级纯。

水为二次去离子水。

全血样品:

医院当日采集的全血加抗凝剂肝素钠后, 放入冰箱 4℃保存备用。

2 实验

2.1 微波消解全血样品最佳条件的选择

微波消解过程一般分为预热和消解两个阶段。预热过程是在全功率 30% 下加热 2 min, 这一过程对样品溶解并不起决定作用, 因此, 没有包括在优化条件之中。影响消解效率的实验条件包括微波功率(P)、消解时间(t)和酸的用量(V)。

现以 Fe 的测定为例说明最佳条件的选择过程。首先预设微波消解系统功率 750 W(全功率), 消解时间为 10 min。然后取相同体积(0.1 mL)的全血样品数份, 依次加入不同体积的硝酸, 按照预设程序消解后测定 Fe 的浓度, 测定结果示于图 1(a)。从图 1(a)可以看出, 随着硝酸用量(体积)的增加, Fe 浓度的测定值逐渐升高。当硝酸体积超过 0.2 mL 后,

收稿日期: 1998-07-03

基金项目: 教育部和陕西省教委留学回国人员专项基金共同资助项目

作者简介: 马悦红(1973-), 女, 江苏镇江人, 西北大学硕士生, 从事分析化学研究。

测定值达到一个稳定值,从而得到最佳酸用量为 0.2 mL。重复上述实验过程,但保持酸用量不变而依次改变微波功率,得到功率与浓度相关图(图 1(b))和最佳微波功率(600 W)。在保持微波功率、体积相同的条件下,改变消解时间,由相应时间浓度曲线(图 1(c))得到最佳消解时间(8.0 min)。

2.2 微波消解样品中金属离子的原子吸收光谱法测定

取 1 mL 全血样品于消解罐中,加入 2 mL 硝酸,密闭消解罐后放入微波炉内,按照上述条件消解。完成消解后取出消解罐,自然冷却至室温后打开,待罐内残余酸蒸气挥发尽后用水(测 Pb 时用 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 基体改进剂)洗涤数次,转入 10 mL 容量瓶中,定容后摇匀待用。Ca、Mg、Cu 和 Fe 用火焰原子吸收光谱法测定,Mn 和 Pb 用石墨炉原子吸收光谱法测定。样品消解后稀释 10 倍测定 Cu、Mn 和 Pb,稀释 50 倍测定 Ca 和 Mg,稀释 100 倍测定

Fe。测定条件列于表 1、表 2。

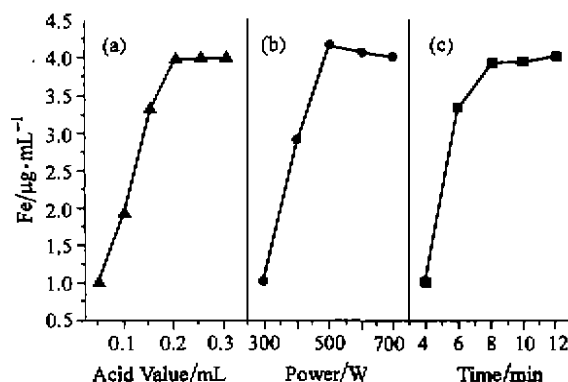


图 1 微波消解实验条件优化曲线

Fig. 1 The experimental parameters optimization processes

(a) 溶样酸用量与 Fe 浓度曲线

(b) 微波功率与 Fe 浓度曲线

(c) 消解时间与 Fe 浓度曲线

表 1 火焰原子吸收光谱仪工作条件

Tab. 1 Instrumental conditions for AAS analysis

参 数	火焰原子吸收光谱法			
	Ca	Mg	Cu	Fe
灯电流/mA	7.5	7.5	7.5	15.0
波长/nm	422.7	285.2	324.7	248.3
光谱通带/nm	0.4	1.3	1.3	0.2
助燃气压力/ $\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$	1.60	1.60	1.60	1.60
燃气压力/ $\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$	0.35	0.20	0.30	0.30
燃烧器高度/mm	10.0	7.5	7.5	7.5

石墨炉原子吸收光谱法(进样量 20 μL , 氩气流速 200 mL/min)							
元素	波长/nm	光谱通带/nm	灯电流/mA	石墨炉升温程序/ $^{\circ}\text{C}$			
				干燥(30 s)	灰化(30 s)	原子化(7 s)	清除(3 s)
Mn	279.5	0.4	7.5	80~120	500	2 500	2 800
Pb	283.3	1.3	7.5	80~120	600	2 000	2 500

2.3 全血样品的湿法消解

取 1.0 mL 血样于烧杯中,加入 4.0 mL 硝酸,盖上表面皿,置于电炉上加热消解。

控制温度使样品保持微沸状态。

消解过程需要补充 2.0~4.0 mL 硝酸直至溶液变为清亮的淡黄色。继续加热至溶液残余 0.5 mL 左右。

取下烧杯,冷却至室温后,稀释成不同倍数分别测定 Ca、Mg、Cu、Fe、Mn 和 Pb。

3 结果和讨论

比较微波消解和湿法消解的时间和硝酸的用量,前者在 10 min 之内可以完成消解,样品和酸的体积比为 1:2;后者需要 25 min 和 6~8 倍于样品体积的酸消耗。因此,微波消解在节省时间(2.5 倍)和节约酸消耗(2~3 倍)方面的效率和优点是显而易见的。从表 3 列出的回收率和精密度实验结果可

以看出,微波消解法的回收率、标准偏差($n=6$)和变异系数等指标普遍接近或优于传统的湿法消解结果。因此,用微波消解法溶解全血在实践上是可行

的。图2为一组正常人(献血员)全血样品中Ca, Mg, Cu, Fe, Mn 和 Pb 含量的分析结果。其中横坐标为含量(范围),纵坐标为有关离子的含量出现在

表2 微波消解法以及湿法消解法回收率和精密度实验结果

Tab. 2 Recovery and precision results for microwave digesting and wet digesting

方法	元素	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Pb
微波消解	回收率/%	94.0	96.0	94.0	97.0	93.0	98.0
		97.0	98.0	100.0	101.1	98.0	99.0
		108.0	98.0	100.0	102.0	100.0	100.0
	标准偏差 σ	0.49	0.27	0.05	1.4	3.3	2.7
	变异系数/%	0.53	0.62	3.4	0.36	5.1	2.4
湿法消解	回收率/%	99.0	104.0	94.0	92.0	93.0	98.0
		116.0	105.0	97.0	101.0	93.0	101.0
		117.0	107.0	98.0	105.0	97.0	104.0
	标准偏差(σ)	0.45	0.41	0.04	3.4	2.5	1.7
	变异系数/%	0.83	0.71	5.0	0.97	8.2	2.4

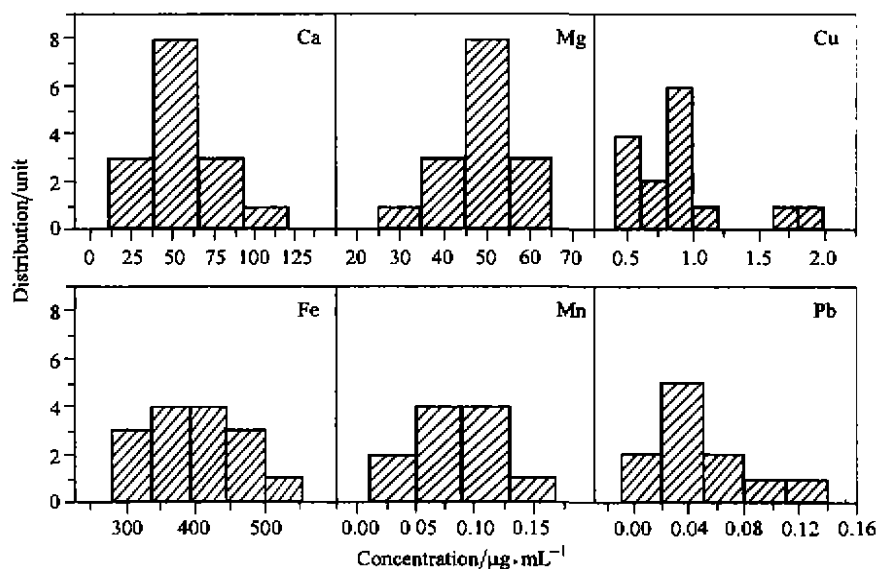


图2 正常人(献血员)全血样品中Ca, Mg, Cu, Fe, Mn 和 Pb 含量测定结果的统计分析

Fig. 2 Statistic analysis of the concentrations of Ca, Mg, Cu, Fe, Mn and Pb in blood samples determined using atomic absorption spectroscopy

某一浓度范围的例数(个)。尽管分析样品个数有限(11~15个),除Cu之外,其他各种离子浓度接近正常值,不同浓度值出现的几率呈现高斯分布。这与临

床统计结果完全相符,再次证实微波消解法溶解全血样品的方法具有实用价值。

参考文献:

- [1] Jiang W C, Chalk S J, Kingston H H. Ozone degradation of residual carbon in biological samples using microwave irradiation[J]. The Analyst, 1997, 122(3): 211-215.

- [2] Liu H.S, Wang N F. Determination of 15 ultra-trace rear-earth elements in hair by micro-wave-digestion using ICP-AES [J]. Analytical Laboratory, 1996, 15(5): 67-72.
- [3] Stegmann W, Goldstein S T, Georgieff M. Determination of magnesium in micro-wave-digested biological samples by mass spectrometry[J]. The Analyst, 1996, 121: 901-904.
- [4] Van Dael P, Van Cauwenbergh R. Determination of selenium in human serum by AAS using electrothermal atomization with longitudinal zeeman-effect background correction or flow-injection hydride generation[J]. Spectroscopy, 1995, 16(6): 251-255.
- [5] Krachler M, Radner H, Irgolic K J, et al. Microwave digestion method for the determination of trace elements in brain and liver samples by ICP-MS[J]. Anal. Chem., 1996, 335(3): 120-128.
- [6] Granadrillo V A, Parrade M L. Determination of total chromium in whole blood, blood components, bone, and urine by fast furnace program electrothermal atomization AAS [J]. Anal. Chem. 1994, 66(21): 3 624-3 631.
- [7] Kingston H M, Jacsie L B. 分析化学中的微波制样技术-原理及应用[M]. 郭振库译. 北京: 高等教育出版社, 1992.
- [8] 米瑞华. 稀释剂和基体改进剂在血铅原子吸收分析中的应用[J]. 理化检验·化学分册, 1990, 26(4): 59-61.
- [9] 王国兴. 实用原子吸收分析技术[M]. 郑州: 河南科技出版社, 1996.

(编辑 时亚丽)

A study on the micro-wave digestion method for the measurement of inorganic elements in the whole blood sample

MA Yue-hong¹, CHANG Xu-hong¹, LIU Mai-li^{1,2}

(1. Instrumental Analysis Research Center, Northwest University, Xi'an 710069, China;

2. Laboratory of Magnetic Resonance and Atomic and Molecular Physics, Wuhan Institute of the Physics and Mathematics, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China)

Abstract: A micro-wave digesting method for the measurement of inorganic elements in the whole blood sample is presented. The six elements, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn and Pb, were chosen as the examples to test the method and their concentrations were measured using atomic absorption spectroscopy. The new method is proved to be faster, efficient and to consume less chemicals compared with the conventional wet digesting method.

Key words: micro-wave digest; wet digest; whole blood; atomic absorption spectroscopy