

凹面光栅整体组合狭缝五通道原子吸收式 血液五元素分析仪的研制

刘娜¹ 张榕^{*2}

¹(大连医科大学, 大连 116044) ²(齐齐哈尔医学院, 齐齐哈尔 161006)

摘要 自行研制了一种凹面光栅整体组合狭缝五通道原子吸收式血液五元素分析仪,用于人全血中 5 种元素 Ca, Cu, Mg, Fe 和 Zn 的测定。采用 1 支五元素空心阴极灯作为光源,以单反射方式聚焦在火焰中心,以凹面光栅为色散元件。设计了五元素锐线通过的整体组合狭缝。采用顺序注射变速恒流在线稀释的溶液注入方式。为消除干扰谱线对钙的原子吸收的影响,在钙狭缝上覆盖 422 nm 滤光片。设计了该分析仪器的操作软件,适合于血液五元素分析和仪器的性能测试。确定了以吸收峰面积为定量依据,以 1 mg/L 十二烷基苯磺酸钠和 0.060 mol/L HCl 组成血液稀释液。建立了血液中 Ca, Cu, Mg, Fe 和 Zn 的分析方法,相对标准偏差 RSD<5%,回收率为 95.2%~98.7%。

关键词 钙;铜;镁;铁;锌;微量元素;血液;原子吸收

1 引言

钙、铜、镁、铁和锌是人体必需的 5 种营养元素^[1],简称血液五元素,它是反映人体元素营养状况的重要指标。由于血液中 Ca 和 Mg 属于常量元素,而 Cu, Fe 和 Zn 属于微量元素,因此血中五元素的含量相差悬殊,并且基体成分复杂,个体差异大,对测定方法在灵敏度、准确度、抗干扰能力和重复性等方面的技术要求较高。国内外虽有血液五元素分析仪的报道,但设计上仍有不足之处。本研究建立了灵敏、快速分析血液五元素的方法。本方法有别于经典的原子吸收方法,采用一滴血(约 40 μ L),一次同时测量 5 种元素,用于微量元素缺乏症的检查。

本研究为了改善 Ca, Mg, Fe 测定的线性范围,降低 Cu 和 Zn 的检出限,采用顺序注射的分析方法,实现在线稀释,提高测量的重复性。本方法的特点是测定条件稳定、分析速度快、线性范围宽、灵敏度高,检测自动化。顺序注射分析^[2,3]是一种易于自动控制的溶液配送方法,适用于操作复杂的大批量样品分析,消除了由于实验条件、实验环境以及人为等难以控制因素的干扰,特别适用于易受环境因素影响的元素测定,具有很好的应用前景。

2 实验部分

2.1 整机设计

2.1.1 整机结构 如图 1 所示,五元素分析仪主要由气路(空气和乙炔)、气路安全控制系统、光路系统、控制电路板(包括数据采集单元)、微型计算机和血液五元素分析仪软件组成。其中光路系统、控制电路板和血液五元素分析仪软件是本研究的主要内容。

2.1.2 光路系统组成 五元素(Ca, Cu, Mg, Fe 和 Zn)空心阴极灯(北京曙光明电子光源仪器有限公司

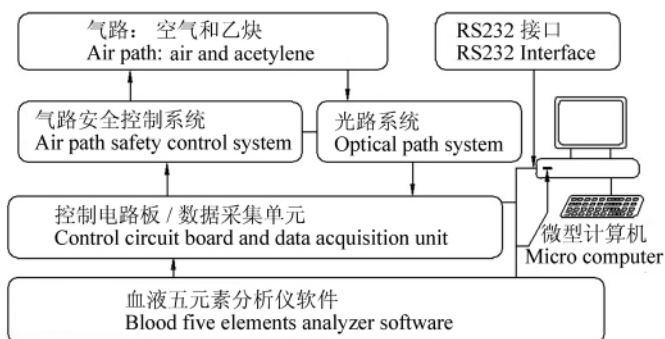


图 1 五通道原子吸收式血液五元素分析仪整机结构图

Fig. 1 Schematic diagram of five-channel atomic absorption blood five elements analyzer

2011-02-18 收稿;2011-06-09 接受
本文系辽宁省博士后资助项目(No. 76746)
* E-mail: cdc343cdc@163.com

司)、光源凹面反光镜($R=219$)、火焰燃烧器、入缝凹面反光镜($R=158$)、入缝(0.2 mm)、凹面光栅(罗兰圆直径 224 mm, 1200 线/mm, 光栅常数 $0.833333 \mu\text{m}$)和 5 个出缝, 5 支 R212 侧窗光电倍增管如图 2 所示。

2.1.3 整体组合狭缝设计 整体组合狭缝是个高精度的光谱定位器件, 5 个狭缝采用细丝线切割一次完成, 保证相对位置的高精度。入射狭缝的位置和出射狭缝宽度全部固定, 有利于安装和调试。其位置要根据凹面光栅方程计算。根据光栅方程 $\sin(\alpha + \beta) = \lambda d$ 、凹面光栅的罗兰圆直径 $D=224.00 \text{ mm}$ 、光栅常数 $d=1200 \text{ 线数/mm}$ 、入射角 $\alpha=0^\circ$ 和光谱带宽计算出以光栅中心为基点的线色散率($Dd/\cos\beta$) $\mu\text{m/nm}$ 、色散角度和狭缝宽度。(表 1 和图 2)。

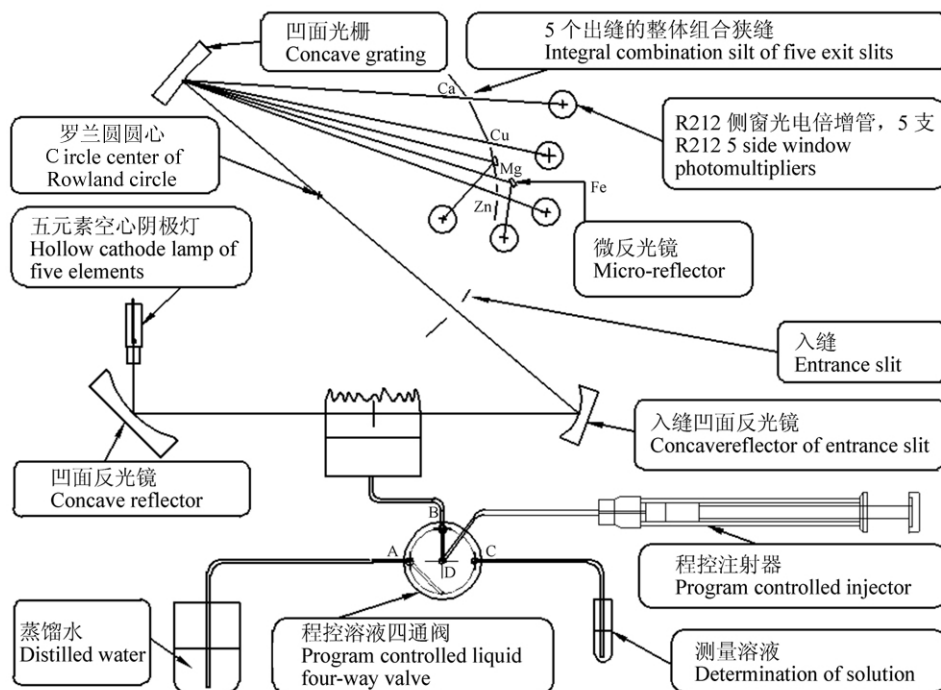


图 2 五通道原子吸收式血液五元素分析仪光路结构图

Fig. 2 Optical structure of five-channel atomic absorption blood five elements analyzer

表 1 整体组合狭缝定位数据

Table 1 Fixed position data of integral combination slit

元素 Elements	锐线波长 Sharp line (nm)	线色散率 Linear dispersion ($\mu\text{m/nm}$)	色散角度 Dispersion angle ($^\circ$)	光谱带宽 Spectral bandwidth (nm)	狭缝宽度 Slit width (μm)
Ca	422.67	155.9	30.4778	0.8	125
Cu	324.75	145.9	22.9358	0.4	58
Mg	285.21	143.0	20.0141	1.6	229
Fe	252.3	141.0	17.6235	1.6	225
Zn	213.86	139.1	14.8703	1.6	222

5 条锐线都入缝的关键是选择一条基准锐线。Ca 的 422.67 nm 谱线是唯一肉眼可见的谱线, 其光谱带宽为 0.8 nm, 作为基准锐线。以凹面光栅中心为基准圆心, 旋转凹面光栅使 0 级光从入缝返回, 再精密旋转凹面光栅使 Ca 锐线首先入缝, 其余 4 条谱线也可以同时入缝, 这是顺利入缝的技术关键。血液中 Cu 的含量最低, 测量的误差大, 优先确定 Cu 的最大吸收的光栅位置, 因此 Cu 的光谱带宽为 0.4 nm, Mg, Fe 和 Zn 的光谱带宽是 1.6 nm。测量 2.3.1 节中的 3 号标准溶液, 测量铜的吸光度, 微调光栅, 使 Cu 的吸光度达到最大。实验表明, 采用独立的狭缝不易保证 5 条锐线同时入缝, 且调试困难。

2.1.4 顺序注射变速恒流在线稀释的注入方式 变速恒流进样的目的是为了改善 Ca, Mg 和 Fe 测定的线性范围, 降低 Cu 和 Zn 测定的检出限, 实现在线稀释, 提高测量的重复性。血液中的 Ca, Cu,

Mg, Fe 和 Zn 的含量相差悬殊, 采用 2.3.3 节的方法稀释 26 倍, 适合于 Cu 和 Zn 测定; 而 Ca, Mg 和 Fe 超过线性范围, 需稀释 51 倍。测量的样液总量 1040 μL , 采样时间 20 s, 0~4 s 测量基线, 4~10 s 低速恒流进样, 进样速度 50 $\mu\text{L}/\text{s}$, 测量 Ca, Mg 和 Fe; 10~11 s, 停止进样。11 s 后进样速度 100 $\mu\text{L}/\text{s}$, 测量 Cu 和 Zn。软件中设计了变速进样方式选择。研制了程控 2 位 4 通道选择阀(见图 3a), D 为公共端, B 为原子吸收吸液管, A 为蒸馏水, C 为被测溶液。程控注射器吸被测液时 DC 通, 蒸馏水进入雾化器, AB 通(见图 3a)。程控注射器推被测液时 DB 通, 蒸馏水 A 端和进液口 C 端被封闭(见图 3b)。

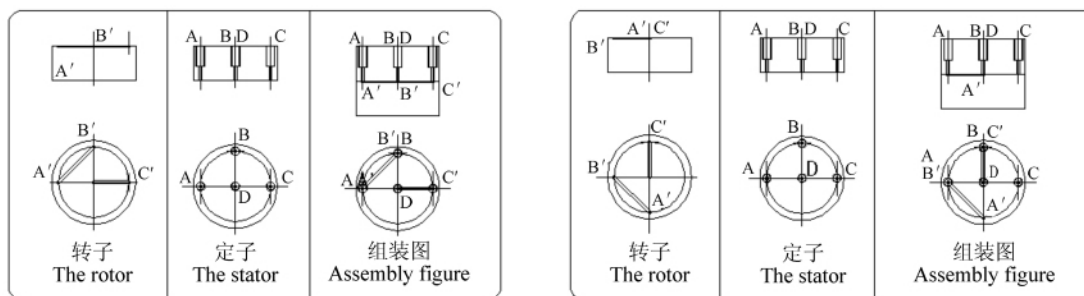


图 3 程控 2 位 4 道选择阀的吸液状态(a)和 推液状态(b)

Fig. 3 State of program-controlled 2 bit 4 way valve to take liquid(a) and to push out liquid (b)

2.1.5 提高钙测量的线性范围和降低检出限的方法 在钙缝之前加一个中心波长为 420 nm, 带宽 10 nm 的滤光片, 可降低检出限并提高线性度, 消除大背景。

2.1.6 控制电路板(包括数据采集) 对空心阴极灯采用脉冲供电方式, 脉冲频率 200 Hz, 光电流经过电流电压变换器转换成光电压, 范围 ± 5000 mV, 精度 20 位(模数转换精度 1048576 字), $10000 \text{ mV}/1048576 \text{ 字} = 0.0095367 \text{ mV}/\text{字}$, 软件定义 $4000 \text{ mV} = 100\%$ 透射率, 吸光度 = 0; $0 \text{ mV} = 0\%$ 透射率, 吸光度 $\rightarrow \infty$ 。精度完全满足测量吸光度的要求。采用汇编语言编写。

2.1.7 负高压的施加方式 采用循环迭加的方式施加负高压 NHV, 每次循环施加 NHV 的迭加量 $dE = 0.2 \times (\text{当前透光率} : 100\%)$ 。当前透光率接近 100% 时 dE 小, 实现满度调整的微调; 当前透光率与 100% 相差大时 dE 大, 实现快速施加负高压的目的。

2.2 血液五元素分析仪软件

采用 VB 编写软件。原子吸收是浓度型检测器, 测量吸光度时, 为了消除血液稀释剂的总体积对测量结果的影响, 采用峰面积作为定量依据。测量结束, 自动传送全部标准数据和样品数据。

2.3 实验方法

2.3.1 试剂配制 五元素检测试剂(1 mg/L 十二烷基苯磺酸钠-0.060 mol/L HCl)。1~3 号标准溶液的配制过程用五元素检测试剂稀释。标准溶液浓度见表 2。0 号标准溶液是五元素检测试剂。

表 2 5 种元素混合标准溶液浓度表

Table 2 Concentration of standard solution for five elements

编号 No.	Ca (mg/L)	Cu (mg/L)	Mg (mg/L)	Fe (mg/L)	Zn (mg/L)
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.80	0.10	0.40	5.00	0.15
2	1.60	0.20	0.80	10.00	0.30
3	2.40	0.30	1.20	15.00	0.45

2.3.2 血液采集及血液被测溶液的配制

准备 1 支 1 mL 离心塑料管, 加入 1.00 mL 五

元素检测试剂。采集 40 μL 末梢血样, 在没有凝结的状态下立即加入至 1 mL 离心塑料管中, 混匀, 防凝。血样稀释 26 倍。

2.3.3 主要操作步骤 调整透射率 $T = 100\%$, 吸光度调至零。吸液头插入蒸馏水中, 点击开始测量按钮, 出现吸液等待时间的倒计时, 倒计时为 0 时出现立即吸液提示, 吸液头快速插入待测试液中, 测量时间与吸光度的变化曲线。被测液全部吸完后, 吸液头迅速移至蒸馏水中。完成测量后, 仪器自动暂停, 等待下次测量。

3 结果与讨论

3.1 五元素空心阴极灯的光谱图

五元素空心阴极灯的光谱曲线很复杂。在 SK-2 型原子光谱分析仪上扫描了 200~450 nm 范围内的光谱曲线(图 4)。Ca: 17 号峰; Cu: 11 号峰; Mg: 5 号峰; Fe: 3 号峰; Zn: 1 号峰。

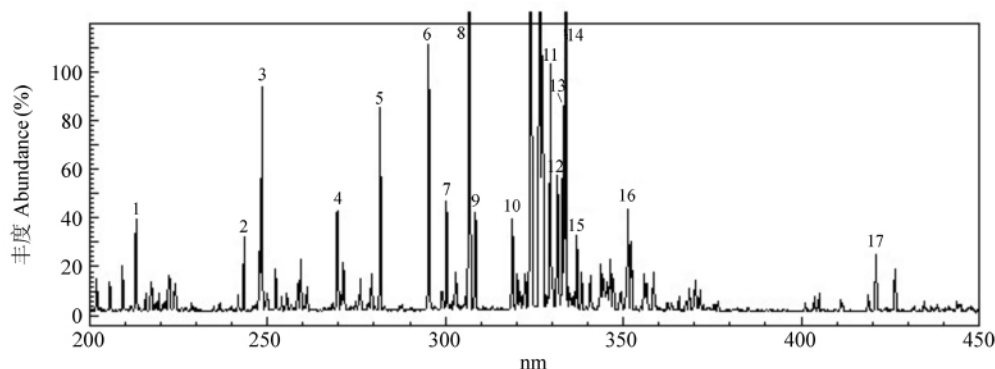


图 4 五元素空心阴极灯的光谱曲线

Fig. 4 Spectra of five elements of hollow cathode lamp

3.2 杂散光和基线噪音宽测量

杂散光是没有光输入时的光的信号总和。杂散光影响标准工作曲线的线性和灵敏度。遮挡入光口, 测量杂散光, 检测时间 100 s。结果以透光率计: Ca 0.201%, Cu 0.268%, Mg 0.297%, Fe 0.121%, Zn 0.107%。

检测血液五元素的最长时间低于 30 s, 因此测量基线噪音宽时规定检测时间为 100 s。基线噪音宽定义为空白信号的标准差的 3 倍。静态噪音宽是不点火状态下基线噪音宽在 ±0.003 范围内; 不点火基线噪音宽(以吸光度 Abs 计): Ca 0.00017, Cu 0.00019, Mg 0.00135, Fe 0.00013, Zn 0.0021。火焰噪音宽是点火状态下的基线噪音宽在 ±0.006 范围内。点火基线噪音宽(以吸光度 Abs 计): Ca 0.00124, Cu 0.0059, Mg 0.00094, Fe 0.00224, Zn 0.00265。

3.3 回归分析

按 2.3.3 节测量表 2 中的五元素检测试剂及 1~3 号标准溶液, 连续 7 次测量 3 号标准溶液。测量吸光度 A。直线回归分析: 浓度 $C=aA+b$, 得到直线回归分析数据见表 3, 线性误差大。抛物线回归分析: 浓度 $C=aA^2+bA+c$, 得到抛物线回归分析数据见表 3, 线性误差小。

表 3 直线回归分析和抛物线回归分析数据

Table 3 Data of linear regression analysis and parabola regression analysis

元素 Elements	直线回归 Linear regression				抛物线回归 Parabola regression				
	a	b	Correlation coefficient (r)	线性误差 Line error (%)	a	b	c	Correlation coefficient (r)	线性误差 Line error (%)
Ca	-0.0177	9.2901	0.9995	1.44	3.1021	8.4948	0.0045	0.9908	1.47
Cu	-0.0058	5.6510	0.9993	2.80	9.4756	5.1408	-0.0027	0.9865	2.15
Mg	-0.0330	1.9737	0.9958	6.09	1.0008	1.3793	0.0038	0.9859	2.20
Fe	-0.8306	74.463	0.9824	13.7	250.44	26.608	0.0263	0.9848	2.29
Zn	-0.0170	4.9918	0.9953	6.79	18.280	3.3596	-0.0013	0.9927	1.14

直线回归(Linear regression): $dC=|aA+b-C|$; 抛物线回归(Parabola regression): $dC=|aA^2+bA+c-C|$; 线性误差(Line error): $E=[\sum(100 \times dC/C)]/3$ 。

3.4 性能指标检测

以透光率 99% (吸光度 $A=0.0043648$) 对应的被测物浓度为特征浓度。以连续 7 次测量 3 号标准溶液吸光度的相对标准偏差 RSD 表征重复性。以连续 7 次测量 3 号标准溶液峰面积的标准差的 3 倍对应的被测物浓度为检出限。结果列于表 4。

表 4 性能指标检测表

Table 4 Checklist of performance indicators

元素 Elements	重复性 Repeatability (%)	特征浓度 Characteristic Concentration (mg/L)	检出限 Detection limit (mg/L)
Ca	0.30	0.035	0.0085
Cu	3.33	0.030	0.0097
Mg	1.03	0.014	0.0075
Fe	0.47	0.26	0.10
Zn	0.77	0.015	0.027

3.5 样品分析

3.5.1 血样测定 全血样品由某志愿者捐献,经 2.3 节所述方法进行测定,加入标准物进行回收率实验,结果见表 5。

3.5.2 质量控制血样测定 测定了批号 SERO1003192 冻干粉全血微量元素样品(挪威 Seronorm 公司)的五元素含量结果见表 6。SERO1003192 样品中加入 78 mL 五元素检测试剂,得到相当于稀释 26 倍的

3.00 mL 原血样。表明本法测量结果可靠。

表 5 血样的检测结果和回收率(n=7)

Table 5 Results and recovery rates of blood samples (n=7)

元素 Elements	含量 Content	RSD (%)	加入含量 Added	回收率 Recovery (%)
Ca	1.86 mmol/L	0.84	1.00 mmol/L	96.8
Cu	19.7 μ mol/L	4.348	10.0 μ mol/L	94.1
Mg	1.83 mmol/L	0.928	1.00 mmol/L	98.7
Fe	9.45 mmol/L	1.14	5.00 mmol/L	97.4
Zn	88.4 μ mol/L	1.13	50.0 μ mol/L	95.2

表 6 质量控制血样测定

Table 6 Comparison of blood samples between marked value and measured value

元素 Elements	标示值 Marked value (mg/L)	本法测定值 Measured value (mg/L)
Ca	14.0 \pm 0.2	13.8
Cu	1.201 \pm 0.039	1.16
Mg	15.6 \pm 0.3	16.2
Fe	333 \pm 10	342.2
Zn	7.659 \pm 0.265	7.80

References

- 1 WANG Kui(王 夔). *Trace Elements in Life Science*(生命科学中的微量元素). Beijing(北京): China Metrology Publishing House(中国计量出版社), **1992**: 19~28
- 2 Ruzicka J, Marshall G D. *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 237(2): 329~343
- 3 WANG Jian-Ya, FANG Zhao-Lun, XU Shu-Kun(王建雅, 方肇伦, 徐淑坤). *Chinese J. Anal. Chem.*(分析化学), **2002**, 30(3): 307~311

Research on Five-channel Atomic Absorption Blood Five Elements Analyzer with Concave Grating and Integral Combination Slit

LIU Na¹, ZHANG Rong^{*2}

¹(Dalian Medical University, Dalian 116044) ²(Qiqihaer Medical University, Qiqihaer 161006)

Abstract A five-channel atomic absorption blood five elements analyzer with concave grating and integral combination slit was developed for the determination of five elements (calcium, copper, magnesium, iron and zinc) in blood. A hollow cathode lamp of five elements was used and the light was focused on the centre of flame by the simple reflection and the concave grating was used as the dispersive element. The integral combination slit was designed to allow the sharp lines for the five elements through. The solutions were order injection which was designed to be an online dilute pattern with variable speed but constant current. To avoid the influence of interference spectra on the calcium atomic absorption, the filter of 422 nm was covered on the calcium slit. A program of software with a good performance for the operation for five elements analyzer was written. The peak area as quantitative basis was defined. The blood diluent consists of 1 mg/L sodium dodecyl benzene sulfonate (SDBS) and 0.060 mol/L HCl. The proposed method was applied to the determination of zinc, iron, calcium, magnesium and copper in the blood. The relative standard deviation (RSD) was less than 5% and the recovery rate was 95.2%—98.7%.

Keywords Calcium; Copper; Magnesium; Iron; Zinc; Trace elements; Blood; Atomic absorption analyzer

(Received 18 February 2011; accepted 9 June 2011)