维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)01-0119-02

静态化学发光淬灭分析法测定血清硒

易　钢,颜玉蓉,钟　梁,涂植光

(重庆医科大学医学检验系,重庆医科大学临床检验诊断学实验室,重庆　400016)

【摘　要】目的：探讨硒对鲁米诺（Luminol）-过氧化氢-高锰酸钾发光体系的阻化作用并实现血清硒的化学发光测定。方法：采用 GD-1 型液相化学发光仪测定鲁米诺-过氧化氢-高锰酸钾反应体系的化学发光强度，建立化学发光强度与溶液中硒浓度的标准曲线，从而实现血清硒的静态化学发光淬灭分析测定。结果：本方法的检出限为 6.5×10^{-4} μg/ml，线性范围为 $1.5\times10^{-3}\sim6.5\times10^{-1}$ μg/ml；平均回收率为 94.21%，变异系数为 2.97%。结论：本方法是一种简便、准确的血清硒检测方法，对 Mg^{2+}、Cu^{2+} 等多种离子的干扰实验表明方法具有较好的选择性。

【关键词】鲁米诺；化学发光；硒

【中国图书分类法分类号】O657.3　　【文献标识码】B　　【收稿日期】2005-09-06

Determination of selenium in serum with Luminol-H_2O_2-$KMnO_4$ chemiluminescence system

YI Gang, et al

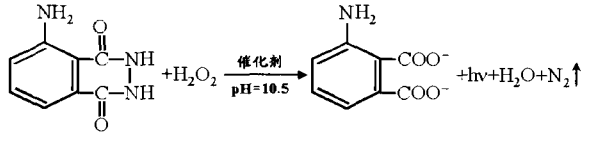
(*Department of Medical Laboratory, Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the quenchable effect of Selenium to Luminol-H_2O_2-$KMnO_4$ Chemiluminescence system and to estahlish a method for the determination of Selenium in serum. *Methods*: Chemiluminescence system was used to determine the Chemiluminogenic strength of Luminol-H_2O_2-$KMnO_4$ and the detection of Selenium in serum was realized.*Results*:A detection limit with 6.5×10^{-4} μg/ml and a $1.5\times10^{-3}\sim6.5\times10^{-1}$ μg/ml linear range were obtained. The average recovery fraction was 94.21% and the relative standard deviation was 2.97%. *Conclusion*: A satisfactory result for the determination of Selenium in serum by this method is obtained.

【Key words】Luminol; Chemiluminescence; Selenium

硒（Se）是人体健康所必需的一种超微量元素，具有调节人体免疫功能和防癌、抗癌作用，人体缺硒与冠心病和癌症等疾病的发病有关[1-6]。但硒在人体中的含量过多或过少都会引起疾病。对于临床诊断和病理研究而言，建立一种简便快速、测定准确的硒分析方法具有重要的意义。目前，测定硒的方法主要有荧光分析法、气相色谱法、原子吸收分光光度法、中子活化法和溶出伏安法等，化学发光分析法[7]以其灵敏度高、仪器简单、线性范围宽而越来越多地应用于临床分析中，但未见有血清硒测定的报道。本文拟利用硒对鲁米诺（Luminol）-过氧化氢-高锰酸钾发光体系的阻化作用，建立一种简便、准确的血清硒检测方法。

鲁米诺（Luminol，3-氨基苯二甲酰肼）是液相化学发光反应中的发光剂，催化剂存在时，它与过氧化氢在碱性溶液中反应，产生化学发光，光辐射的波长为 427nm[8]



当反应体系中有硒（Ⅳ）存在时，会使体系的化学发光强度下降或完全消失，即化学发光的淬灭。化学发光的淬灭程度与体系中硒的含量成正比，因此，在合适的浓度范围内，可利用化学发光的

作者介绍：易　钢（1964-　），男，讲师，硕士，主要研究方向：生物分析化学。

维普资讯 http://www.cqvip.com

淬灭而测定血清硒。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

GD-1 型液相化学发光仪（样品池自行组装），西北有色地质研究所

PHS-2C 型酸度计，上海雷磁仪器厂

Shimadzu RF-540 荧光光度计

1.0×10^{-2}mol/L 鲁米诺溶液：称取鲁米诺 0.1772g，加入 NaOH0.4g，用双蒸水溶解并转入 100ml 棕色容量瓶定容，放置 2 周后待用；应用时用双蒸水稀释为 1.0×10^{-4}mol/L 鲁米诺应用液。

0.02mol/L 高锰酸钾溶液：称取高锰酸钾 0.8g 溶于 250ml 双蒸水，加热煮沸，置于室温条件下阴暗处保存 1w，用玻璃砂芯漏斗过滤，用草酸钠基准物标定，求出其准确浓度；应用时用双蒸水稀释为 1.0×10^{-3}mol/L 高锰酸钾应用液。

1mg/ml 硒标准溶液：称取 0.1000g 硒粉，加入 1.0ml 浓硝酸和 0.3ml 浓高氯酸，置于 60~80℃水浴加热溶解，赶尽硝酸后移至电热板上，在 160℃加热赶尽高氯酸，冷却，用双蒸水溶解并转入 100ml 容量瓶定容；应用时用双蒸水稀释为 1μg/ml 硒标准应用液。

1.0×10^{-2}mol/L H_2O_2 溶液：移取 34% $H_2O_2$0.25ml 于 250ml 容量瓶中用双蒸水定容；应用时用双蒸水稀释为 1.0×10^{-4}mol/L H_2O_2 应用液。

巯基棉的制备：5g 脱脂棉用 50ml 硫代乙醇酸浸泡后，于 50℃烘箱中烘干，用双蒸水冲洗至中性，挤干水分后于 50℃烘箱中烘干，置棕色磨口瓶中于干燥器中保存待用。

所用试剂均为分析纯，试验用水为双蒸水。

1.2 试验方法

1.2.1 标准淬灭液

取 10 个 10ml 容量瓶，分别加入 1.0×10^{-3}mol/L 高锰酸钾应用液 1.00ml，0.10mol/L HCl 0.40ml，依次加入 1、5、10、20、50、80、100、200、500、1000μl 的 1μg/ml 硒标准应用液，用双蒸水稀释至刻度，摇匀。

1.2.2 样品溶液

1.00ml 血清样品，加入 1.0ml 浓硝酸和 0.3ml 浓高氯酸，于 100℃水浴消化 4h，用双蒸水稀释至 5.00ml，摇匀；将上述溶液用巯基棉过滤，利用巯基棉对硒的吸附作用分离干扰离子，将吸附后的巯基棉置于小烧杯中，加入浓盐酸 1ml，于沸水浴中加热至巯基棉完全被破坏，迅速过滤并洗涤，滤液转入 5ml 容量瓶中用双蒸水稀释至刻度，摇匀待用。

1.2.3 样品淬灭液

于 5ml 容量瓶中，依次加入 1.0×10^{-3}mol/L 高锰酸钾应用液 0.50ml，0.10mol/L HCl 0.20ml，用巯基棉排出干扰离子的样品溶液 1.00ml，用双蒸水稀释至刻度，摇匀。

1.2.4 化学发光值的测定

准确移取 1.0×10^{-4}mol/L 鲁米诺应用液 1.50ml、淬灭液 1.50ml 于 1cm 石英比色皿中，置于发光仪的样品仓，关闭仓门。通过进样口向石英比色皿中注入 1.0×10^{-4}mol/L H_2O_2 应用液 1.50ml，测定反应的化学发光强度值。

2 结 果

2.1 标准曲线与检测限

按照上述试验方法测定系列标准淬灭液的化学发光值，以各个溶液的硒浓度为横坐标，对应的化学发光值为纵坐标，绘制标准曲线。标准曲线的回归方程为

$$Y = -2.59\times10^{-3}X + 68.54$$

Y 为化学发光值，X 为溶液的硒浓度（μg/ml），相关系数为 0.9879，线性范围为 1.5×10^{-3} ~ 6.5×10^{-1}μg/ml，检出限为 6.5×10^{-4}μg/ml。

2.2 方法的准确度

移取 1μg/ml 硒标准应用液 40μl 加入到 1.00ml 不同的人血清中，按照上述试验方法进行回收实验，共进行 10 次测定，每次均作平行双份。测得平均回收率为 94.21%，变异系数为 2.97%。

2.2 方法的精密度

按照上述试验方法对同一份混合人血清进行十次平行测定；并采用 2,3- 二氨基萘荧光分析法对同一份混合人血清进行十次平行测定作为对照，实验结果如表 1。

表 1 血清硒含量的化学发光与荧光测定结果（n=10）

FA Detecting data		CL Detecting data	
硒含量平均值（μg/ml）	RSD（%）	硒含量平均值（μg/ml）	RSD（%）
0.0974	2.83	0.0952	3.47

2.3 干扰试验

以浓度为 5×10^{-3}μg/ml 的硒标准溶液按照上述方法进行干扰实验（干扰允许误差为 5%）。试验结果表明，10 倍的 Mg^{2+}、Cu^{2+}、Ag^{+}、Ca^{2+}、Co^{2+}、Na^{+}、K^{+}、Zn^{2+}、CO_3^{2-}、PO_4^{3-} 等离子对测定无干扰。

2.4 正常人血清硒含量测定

抽取 25 名 20 ~ 23 岁健康人（其中男性 14 名，女性 11 名）早晨空腹静脉血，分离出血清后按照前述试验方法进行测定，结果正常人血清硒含量最高值为 0.1137μg/ml，最低值为 0.0809μg/ml。

（下转第 128 页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

与孕产史及孕前糖尿病史密切相关，其中表现在，具有不良孕产史及孕前糖尿病史，高龄初产妇其SAS及SDS得分明显高于其它妊娠期糖尿病患者。这可能与这些特殊群体对本次妊娠期望值较高，而疾病本身对胎儿的预后不容乐观，从而出现过度焦虑及抑郁，对这些特殊群体我们应高度重视，加强疾病知识宣教，给予必要的思想疏导，解除患者的焦虑及抑郁情绪。

心理干预可使患者对妊娠期糖尿病有正确的认识，增强患者的信心，积极配合医护人员的治疗，在临床工作中，医护人员在对患者进行药物治疗的同时要给予一定的人文关怀，包括安慰和心理支持，创造健康愉悦的治疗氛围，减轻患者心理压力，提高患者认知水平，消除病理上和心理上的心身反应。并可借助心理实验和心理分析，了解患者的个性特征或性格缺陷，制定相应的心理和行为治疗措施和程序。

参 考 文 献

[1] 任桂英，方耀奇，金 星.老年糖尿病患者的心理健康状况的临床研究[J].中国心理卫生杂志，1999;13(5):304.

[2] 李心天. 医学心理学[M]. 第 1 版，北医协和联合出版社.

[3] WHO TechnicalReport Series No. 844. Prevention of diabetes mellitus. Report of a WHO study Group. Geneva：World Health Organization，1994.

[4] 沈渔邨. 心理、情绪与心身健康[J]. 中华医学杂志，1999;79(2)：155-156.

（上接第 120 页）

3 讨 论

本试验测定的正常人血清硒含量在 0.0809～0.1137 μg/ml 范围，混合人血清含量为 0.0952 μg/ml，与有关报道[9]基本一致；方法的检出限为 6.5×10^{-4} μg/ml，线性范围为 1.5×10^{-3}～6.5×10^{-1} μg/ml；干扰试验表明 Mg^{2+}、Cu^{2+} 等多种离子无干扰，方法具有较好的选择性，是一种简便、准确的血清硒检测方法；进行样品消化时，应控制消化温度，温度过高，容易引起硒的损失，本次试验采用低温消化，消化时间比较长，以保证血清消化完全；在化学发光值测定时，由于本实验采用的化学发光仪的样品池部分是自行组装，采用注射器人工手动进样，通过进样口向石英比色皿中用注入 H_2O_2 应用液进行发光值的测定，因此应特别注意进样方式和进样速度，在每次进样时应保持注射器在样品仓的位置一致、H_2O_2 应用液注入的速度保持一致，以保证测定结果的稳定。

参 考 文 献

[1] 楼小红.微量元素与人体健康[J].广东微量元素科学，1996;3(8)：56-57.

[2] 潘跃根.肺癌血清硒含量测定及临床意义[J].广东微量元素科学，1998;5(2):7-8.

[3] 何立端.微量元素锌、硒与免疫[J].国外医学.医学地理分册，2000;021(001)：4-6.

[4] 郭建军. 硒营养与人体健康 [J]. 生物学通报，2000;35(4)：21-22.

[5] 陈松如.微量元素硒的抑癌作用及机制[J].肿瘤研究与临床，2000;12(1)：62-63.

[6] 张秀明. 现代临床生化检验学 [M]. 人民军医出版社，2001;1007.

[7] 杨根元.实用仪器分析（第 3 版）[M].北京大学出版社，2001;97-102.

[8] 庞志功.化学发光法测定苦杏仁甙的含量[J]. 西北医学杂志，1988;3(4)：2-5.

[9] 康格非.临床生物化学[M].人民卫生出版，1989;105.

（上接第 125 页）

参 考 文 献

[1] 张建芳，于文彬，徐修礼，等. 树突状细胞与超抗原联合诱导抗肿瘤免疫的研究[J]. 肿瘤，2002;22(5)：390-393.

[2] 杨佐南，张 勇，金澄雁，等. 高聚金葡素联合顺铂腔内注射治疗恶性胸腹水 [J]. 实用医学杂志，2003;19(10):1165-1168.

[3] Lando PA, O Lsson, Kalland T, et al. Regulation of superantigen-induced T cell activation in the absence and the presence of MHC class Ⅱ [J]. J Immunol,1996;157(7):2857-2861.

[4] 时勇全. 超抗原与 T 细胞的作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志，1999;15(1)：75-77.

[5] 江 涛，黄仕聪. 检测结核性胸水与癌性胸水中细胞因子的临床意义[J].重庆医科大学学报，2003;28(3)：362-363.

[6] 李同度，李从铸. 肿瘤坏死因子抗体和高聚金葡素对抗癌症恶病质的初步探讨 [J]. 中华肿瘤杂志，1997;19(3)：188-191.