维普资讯 http://www.cqvip.com



# 石墨炉原子吸收法测定脑肿瘤组织和血浆中微量铂

中心实验室 藤永真 陶 毅 代广钧 邱宗荫

附一院神经外科 李明伟 唐文渊

**提 要** 本文改良了Denniston消解样品的方法，探讨了盐酸介质等对测定铂的影响以及分析予处理中的有关问题，建立了测定癌症病人脑肿瘤组织及血浆中微量铂的热解石墨炉原子吸收法。方法的绝对灵敏度为$9.0\times10^{-11}$g/1%吸收，检出限为$4.2\times10^{-11}$g，相对标准偏差为2.6—7.4%。标准加入回收率为92—101%

**关键词** 石墨炉原子吸收法；顺氯氨铂

**中图分类号** O 657.31

测定生物样品中微量铂的方法已用于抗肿瘤铂络合物的药代动力学以及铂族抗癌药物的研究，临床上药物浓度监测也要求对组织等生物样品中微量铂进行常规分析。文献报道有用放射标记示踪法[1]、极谱法[2]、高效液相色谱—无火焰原子吸收联用技术[3]、无火焰原子吸收法[4-9]和x—荧光法[10]分析生物样品中的微量铂。其中无火焰原子吸收法具有干扰小、灵敏度高的优点。Denniston[5]在使用此法的过程中，为防止生物样品灰化处理中铂的损失，采用分步干灰化，取得了较好的定量回收结果。

本文在Denniston法基础上进行改进，摸索出最佳实验条件，探讨了分析予处理中的有关问题。并拟定了生物样品微量铂的测定方法，结果令人满意。

## 实验部分

### 1. 仪器与工作条件

岛津AA—646型原子吸收分光光度计和GF—4型石墨炉及其程序控制器，热涂层石墨管。铂空心阴极灯（北京有色金属院）。

表1 仪器工作最佳条件

| | | | |
|---|---|---|---|
| 分析线：265.9nm | 氩气流速：1.5l/min | | |
| 狭 缝：0.38nm | 干燥：70℃ | 20s | |
| 灯电流：7mA | 150℃ | 13s | |
| 测量方式：峰高 | 200℃ | 20s | |
| 氘灯背景校正 | 灰化：1500℃ | 20s | |
| 进样量：20μl | 原子化：2700℃ | 5s | |
| 标尺放大×2 | 清除：2800℃ | 2s | |

### 2. 试剂

（1） 顺铂制剂：纯度99.0%，齐鲁制药厂生产 批号：881219

（2） 铂丝：纯度99.9%，上海化学试剂厂进口分装。

（3） Triton x—100：上海化学试剂厂进口分装，批号：880830

（4） 盐酸、硝酸均为分析纯。

（5） 王水：一份浓硝酸与三份浓盐酸混合，待溶液呈棕黄色并伴有气体逸出时使用。

（6） 铂标准贮备液[11]：称取0.5000g铂丝，加10ml王水回流加热至溶解，纯水定容至500ml，

维普资讯 http://www.cqvip.com

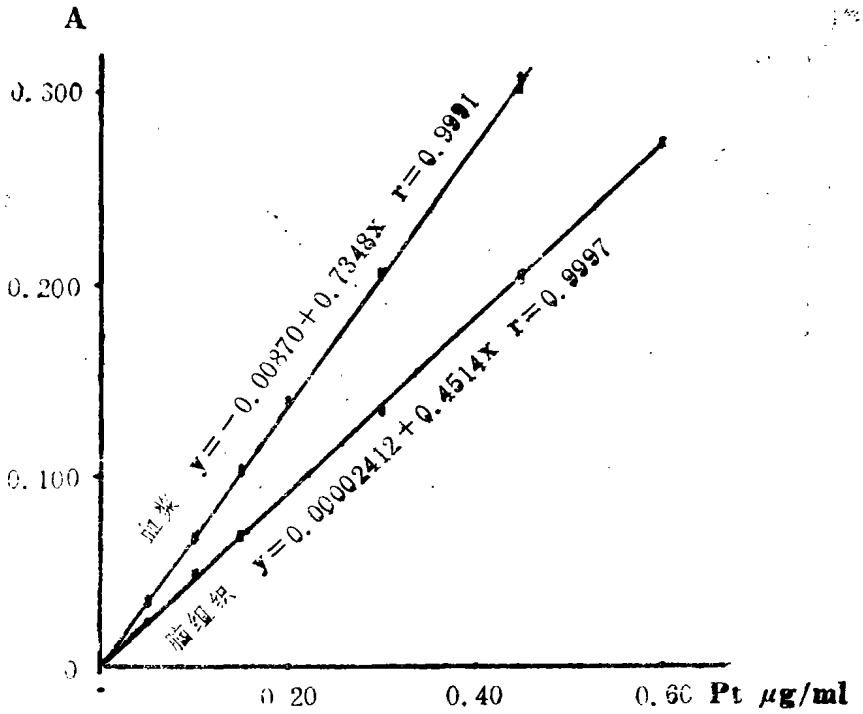



图1 铂的标准曲线

浓度为1.0mg/ml.

（7） 纯水：石英管纯水器蒸馏二次.

### 3. 器皿处理

所用试管、滴头、坩埚等均放入10%硝酸浸泡过夜，自来水、蒸馏水和纯水各冲洗三次.烘干、备用.

### 4. 样品分析

（1） 标准曲线

测定脑组织铂：取1.0mg/ml铂标准贮备液用纯水逐级稀释成铂1.0μg/ml的工作溶液.各取0、1.00、1.50、3.00、4.50、6.00ml至10ml容量瓶，加纯水到刻度，得到铂浓度为0、0.10、0.15、0.30、0.45、0.60μg/ml的标准溶液.

测定血浆铂：取空白血浆加入铂标准工作液.用1% Triton x—100稀释配成浓度为0、0.050、0.10、0.15、0.30、0.45μg/ml铂标准溶液.

在选定的实验条件下测定.绘制标准曲线.

（2） 样品处理

脑组织处理：20例脑肿瘤患者作颈总动脉穿刺，输注顺铂60mg（溶于60ml生理盐水中），10min后、手术切除肿瘤组织，立即用纯水冲洗血块，吸干.准确称取0.500—2.000g湿组织放入30ml瓷坩埚中、按每克组织加1.0ml的比例加入浓硝酸，加盖、室温下放置过夜.沸水浴蒸干，待样品完全炭化后.放入茂福炉加热，100℃20min，150℃30min，200℃1h，250℃1h 冷至室温.加入新制王水0.5ml，搅拌.溶解灰烬，待棕黄色烟逸出，放置30min（在40—60℃保温）.沸水浴蒸干.再加王水0.5ml，重复驱酸.使样品均匀布满坩埚底.加0.5mol/L盐酸0.5ml，搅拌，放置30min，再分二次加入盐酸0.5ml，搅匀，用纯水定容至5.00ml，摇匀，取20μl进样.

血浆处理：3例脑肿瘤病人，顺铂按150mg的剂量缓慢输注.停药后分别于10min、2、24、72h取对侧静脉血1ml于含有肝素抗凝试管中，2700转离心15min，分离血浆.精确吸取0.20ml，加入0.80ml Triton x—100，混匀后直接测定.

## 结果与讨论

### 1. 分析条件的选择

由于岛津AA—646型原子吸收仪不带铂的参考分析条件，我们通过试验优选了峰积分方式、灯电流、狭缝等条件.图2表明，

维普资讯 http://www.cqvip.com

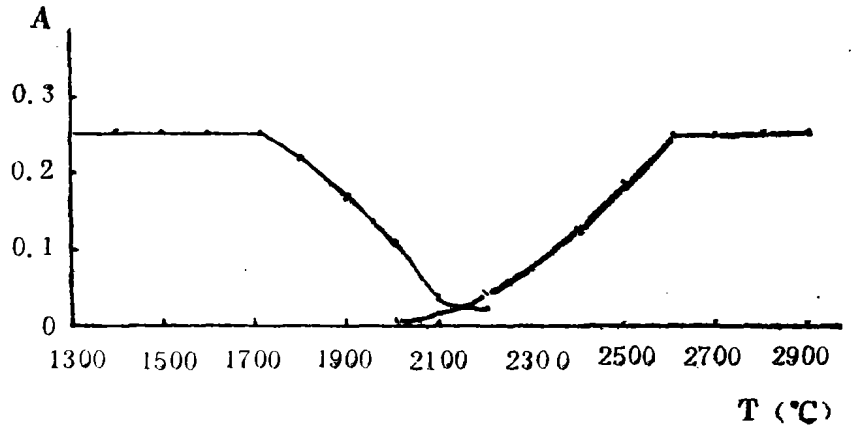



图2 铂的灰化，原子化曲线

表2 重复性试验结果

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 血浆μg/ml | 0.910 | 0.925 | 0.955 | 0.945 | 0.955 | 0.895 |
| 脑肿瘤组织μg/g | 1.485 | 1.506 | 1.629 | 1.527 | 1.588 | 1.464 |

| | 7 | 8 | 9 | 10 | $\bar{X}$ | SD | RSD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 血浆μg/ml | 0.925 | 0.910 | 0.945 | 0.925 | 0.929 | 0.021 | 2.2% |
| 脑肿瘤组织μg/g | 1.444 | 1.568 | 1.692 | 1.629 | 1.553 | 0.081 | 5.2% |

表3 回收试验结果

| | 脑肿瘤组织 | | 血浆 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 样品含量(μg/ml) | 0.057 | 0.057 | 0.046 | 0.092 | 0.140 | 0.190 | 0.132 |
| 加入量 (μg/ml) | 0.050 | 0.125 | 0.050 | 0.100 | 0.150 | 0.200 | 0.250 |
| 测得量 (μg/ml) | 0.103 | 0.183 | 0.092 | 0.192 | 0.283 | 0.385 | 0.384 |
| 回收率 (%) | 92 | 101 | 92 | 100 | 95 | 98 | 101 |

灰化温度大于1700℃时铂开始损失，本文选用1500℃作为铂的灰化温度。原子化温度采用最大功率（os）升温至2600℃出现原子化平台温度。本文选用2700℃。

### 2. 盐酸介质对测定的影响

取2.0mol/L盐酸稀释成0.1、0.2、0.4、0.8、1.0、1.2、1.5、1.8mol/L，分别配制铂浓度为1.0μg/ml标准液进行测定。结果表明，盐酸浓度2.0mol/L以下，不影响铂的测定。而石墨炉分析要求含酸浓度尽量低，以延长石墨炉寿命，但酸度低不利于铂盐溶解。故本文选用0.5mol/L盐酸1ml，分三次加入溶解样品，使盐酸最终浓度为0.10 mol/L。

### 3. 方法的灵敏度、精密度与回收率

该方法的绝对灵敏度为$9.0\times10^{-11}$g/1%吸收，检出限为$4.2\times10^{-11}$g。

分析方法的精密度：随机抽混合血浆和脑肿瘤组织各一份按上述方法处理，在相同工作条件下，各重复测定10次，结果见表2。

回收试验：分别取血浆和脑肿瘤组织作标准加入回收试验，结果见表3。本法回收率均为92—101%。从表2可见，当待测样品

维普资讯 http://www.cqvip.com

表4 三例患者静脉滴注150mg顺铂的血浆铂浓度(μg/ml)

| 时间 | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| 10min | 1.405 | 1.275 | 1.619 |
| 2h | 0.935 | 0.955 | 0.990 |
| 24h | 0.460 | 0.710 | 0.660 |
| 72h | 0.405 | 0.340 | 0.495 |

表5 20例患者经颈总动脉灌注60mg顺铂后10min，脑肿瘤不同部位的铂含量

| 组别 | 例数 | 铂含量 μg/g | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 中心 | 边缘 | 正常 |
| 颈动脉灌注开放血脑屏障 | 10 | 0.452±0.297 | 1.223±0.493 | 0.411±0.188 |
| 颈动脉灌注未开放血脑屏障 | 10 | 0.217±0.187 | 0.434±0.226 | 0.310±0.103 |
| t 检验 | | $p=0.489$ | $p<0.01$ | $p>0.05$ |

含量较低时，其光密度值接近空白管，测定误差相应增大，使回收率有所下降。

### 4. 有关标准曲线的问题

据Denniston报导，在动物实验中，取肝、肾、心等组织作铂的标准曲线与顺铂直接溶于酸中作标准曲线无统计学差别。本方法对象为含铂的人体病变脑组织，取样有限，难以用标准加入法作标准曲线，且样品经过灰化亦转变为铂盐。故我们采用纯溶液制作标准曲线来测定人脑组织铂含量。

### 5. 关于样品处理方法的选择

我们比较了文献介绍的几种分解样品的方法，发现用高氯酸—硝酸或高氯酸—硝酸—硫酸等湿法处理样品，残留的高氯酸根离子对石墨炉测定铂干扰严重，且空白高，容易污染，不安全，消化过程中挥发大量烟雾对人体有害，消解过程不易控制，且需要长时间冻干。回流法消解不完全，不能定量回收。Denniston采用分步干灰化处理，缓慢升温，有效防止了生物样品因暴沸造成的铂损失，能定量回收，具有污染小，操作简单，快速的优点。但干灰化温度高达700℃，坩埚底部变粗糙，坩埚一次性使用，使测定费用提高。另外采用新制王水定容，直接进样石墨炉，腐蚀石墨管，使之寿命大大降低。因此我们在Denniston方法基础上作了二点改进：①多步灰化中，将灰化最高温度700℃改为550℃，时间由90min改为3h，作平行样品加标准液回收试验，回收率高而稳定，坩埚可重复使用。测定表明，适量碳化对铂的回收无影响，这与Denniston报道相符。②把新制王水定容直接进样改为用王水二次溶解、蒸干，使铂盐均匀分布坩埚底，加稀盐酸溶解，纯水定容至5ml，使盐酸的最终浓度为0.1mol/L。这样既保证了铂盐完全溶解又延长了石墨管寿命。

### 6. 分析结果

用本法测定患者血浆铂及脑肿瘤组织不同部位铂含量的结果分别见表4、表5。该法已用于顺铂临床药理学研究并有专文报告[11]。

## 参考文献


[1] Pera M F, et al. Clin. Chem. 1977; 23(7):1245

[2] Fijalek Z, J. Acta. Pol. Pharm. 1986; 43(4):354

[3] Chang Y, et al. Anal. Letters. 1978; B11:449

[4] Bannister S J, et al. Clin. Chem. 1978; 24:877

[5] Denniston M F, et al. AnalLetters. 1981; 14(B6):451

[6] Leroy, A F, et al. Biochem. Med. 1977; 18:184

维普资讯 http://www.cqvip.com

[7] Miller, R G. et al. Atom. Absorp. Newslett, 1975, 14:66
[8] 彭彬,等.中国临床药理学杂志,1987;3(1):1
[9] Litterst, C L. et al. Cancer Res. 1976; 36:2340
[10] Bannister, S.J.et al. CLIN. CHEM. 1977; 23(12):2258
[11] 陈友祥,等.光谱学与光谱分析,1989;9(1):48
[12] 李明伟, 等. 第一届中日神经外科学术报告会, 1990.5重庆

(收稿日期1990-05-21)

# DETERMINATION OF TRACE PLATINUM IN BRAIN TUMOR AND PLASMA BY GFAAS

*Teng Yongzheng,et al*
(Anlysis and Test Centre)

A modified Denniston's method for the determination of pt by graphite furnace atomic absorption spectrophotometric method (GFAAS) was discribed.Several factors of influence and pretreatment method in quantitative of pt was discussed. The trace platinum in brain tumor and plasma in cancered patients who teceived infusion of CDDP (IA 60mg,IV 150mg) was analyzed. The characteristic content of this method was $9.0\times10^{-11}$g/1%A. Limit of detection was $4.2\times10^{-11}$g. The RSD was 2.2--7.4%(n=6). The recovery in the range of 0.05—0.60ug/ml was 92—101%. This method was simple, rapid and accurate.

**KEY WORDS** GFAAS; CDDP

(上接第71页)

4. 测定白细胞的吞噬作用，可以代表机体免疫防御机能。故本试验用于研究机体细胞功能方面有一定临床应用及科学研究价值，目前已广泛应用此试验来研究机体在中西药治疗中免疫功能的变化。本文采用国产印度墨汁设备要求不高，方法简便易行，试剂统一，故更有利于广泛应用。

## 参 考 文 献

[1] 陈群芳, 等. 中华血液学杂志1981; 2(2):21
[2] 舒昌达. 中华器官移植杂志 1983; 4(4):171
[3] 舒昌达. 中华器官移植杂志 1987; 8(3):137.

# DETERMINATION OF PHAGOCYTIC ACTIVITY OF LEUKOCYTE WITH CHINA-MADE CARBON INK IN 164 NORMOL PERSONS

*Zhu Daying*, et al
(Dept. of Hematology, The First Hospital)

Phagocytic activity of leukocyte was determined with Chinamade carbon ink (Indian ink) in 164 mormal persons. The phagocytic rate of neutrocyte was 81.74%(x±SD, 81.74±11.87) and monocytes was 82.46% (x±SD, 82.46±13.46).The phagocytic index of neutrocytes was 219.09±65.60 and of monocytes was 209.51±71.62. The present method is simpler and easier to practice for clinical use, and may be considered as a standard method for the study of immunity function

**KEY WORDS** Leukocyte; phagocytosis; Carbon ink