人体液和发样中微量锌铜的双波长分光光度法同时测定

张世德 夏仕文 魏明竟 （第三军医大学医学检验系分析化学教研室）630038

锌、铜是人体必需微量元素，人体液和组织中锌铜含量的变化与某些疾病的发生、发展关系密切。如急性白血症和各种感染急症中血清铜浓度增高，血清铜的测定可用于 Wilson 氏综合症的诊断；短身材和侏儒综合症与锌缺乏有关，职业性接触引起的血清锌浓度增高引起锌中毒。目前血清锌、铜的测定已列为临床生化检验项目[1]。近年研究发现儿童淋巴性白血病等疾病中血浆铜随血浆锌降低而增高，故两元素的同时测定更具有临床意义[2]。本文提出以 4-(2-吡啶偶氮)萘酚为显色剂，乳化剂 OP 为增溶剂的显色体系，采用双波长分光光度法不经分离，同时测定人血清、尿液和发样中锌、铜含量，结果令人满意。

1 材料和方法

1.1 实验仪器和试剂

日立 365 型 UV-Vis 扫描分光光度计，721A 型分光光度计。

锌、铜标准液浓度分别为 0.724mmol/L 和 0.984mmol/L，1.0g/L 4-(2-吡啶偶氮)萘酚(PAN)乙醇溶液，0.35mol/L Na_2HPO_4 缓冲液(pH9.0)，100g/L OP 乳化剂，混合掩蔽剂(250ml 中含柠檬酸钠 1.75g，三聚磷酸钠 0.875g，邻二氮菲 0.075g)，1.2mol/L 三氯乙酸(TCA)溶液，所有试剂皆为 AR 级，实验用水为双蒸去离子水。

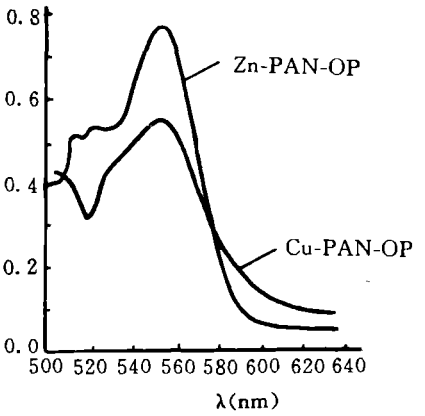
1.2 实验方法

准确移取适量锌、铜标准液或试液于 25ml 容量瓶中，依次加入 7.5ml 缓冲液，2.5ml 混合掩蔽剂，2.5ml OP 和 2.5ml PAN，用水定容、摇匀，显色 5min 后以 1cm 吸收池在选定波长下用试剂空白作参比液测量吸光度。

2 结果

2.1 吸收光谱和测定波长选择

pH9.0 下，Zn^{2+}、Cu^{2+} 与 PAN 形成不溶于水的红色配合物，加入乳化剂 OP 作增溶剂。配合物吸收光谱见附图。由图可见吸收光谱严重重叠，常规分光光度法无法消除彼此间的干扰。



附图 配合物的吸收光谱图

研究发现，Cu-PAN-OP 配合物在 519nm 和 573nm 处吸光度相等，故选择 λ_1 519nm，λ_2 573nm 为锌的测定波长可消除铜的干扰；两配合物的最大吸收波长均为 558nm，此波长下吸光度具有加合性，故铜的测定采用差减法。

2.2 定量关系式的建立

分别测定一系列锌标准液在 519nm、573nm 下的吸光度并计算其差值，用最小二乘法处理表明 $\Delta A_{519\sim573}$ 与 C_{Zn} 线性关系良好，见表 1。由此计算锌浓度；分别测定一系列锌、铜标准液在 558nm 的吸光度，求得此波长下 ϵ_{Zn}、ϵ_{Cu} 分别为 3.76×10^4、3.15×10^4，由 $C_{Cu}=(A_{558}-3.76\times10^4C_{Zn})/3.15\times10^4$ 计算铜的浓度。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 锌的定量表达式

C_{Zn}(μmol/L)	5.79	11.6	17.4	23.2	29.0
A_{519}	0.192	0.331	0.488	0.636	0.792
A_{573}	0.098	0.167	0.235	0.311	0.370
$\Delta A_{519\sim573}$	0.094	0.164	0.253	0.325	0.422

$\Delta A_{519\sim573}=0.0066+0.0141\ C_{Zn}\quad r=0.9986$

2.3 共存离子的干扰及其消除

血清、尿液、发样中共存的Fe^{3+}、Cd^{2+}、Mn^{2+}、Co^{2+}、Ni^{2+}等对Cu^{2+}、Zn^{2+}的测定有干扰。加入混合掩蔽剂可消除干扰[3]。

2.4 方法的准确度和精密度

5个锌和铜标准混合液的测定结果见表2。锌和铜的回收率分别为99.2%～108%，92.0%～102%。血清、尿液、发样各一份在一日内测定5次和在5日内每日测定一次的批内变异系数和日间变异系数见表3。实验结果表明方法准确可靠。

表2 混合标准样品分析结果

编号	理论值(μmol/L)		实测值(μmol/L)		回收率(%)	
	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu
1	8.69	7.87	9.42	7.43	108	94.4
2	14.5	11.8	14.4	12.0	99.2	102
3	20.3	7.87	20.1	7.65	99.2	97.2
4	11.6	19.7	12.4	19.7	107	100
5	17.4	15.7	18.1	16.0	104	92.0

表3 批内变异系数和日间变异系数($n=5$)

样品	元素	批内CV(%)	日间CV(%)
血清	Zn	3.0	5.8
	Cu	4.2	4.5
尿液	Zn	2.8	3.8
	Cu	1.9	5.4
发样	Zn	6.3	8.5
	Cu	5.1	5.8

2.5 试样预处理和分析结果

于新鲜尿液30ml中加入30ml HNO_3和9ml H_2O_2回流消化至近无色，电炉加热至约1ml，冒尽黄烟，冷后用2mol/L NaOH调节pH至中性，配成10ml，取适量按实验方法项下操作测定。

发样依次用洗衣粉和去离子水洗净并用不锈钢剪刀剪成1～5mm长度，晾干后称取0.5g加10ml HNO_3和3ml H_2O_2消化，静置过夜。其余操作同尿液。

血清取1ml加2mol/L HCl 1ml，摇匀，10min后加0.5ml TCA(1.2mol/L)，间断搅拌1min，离心(3000r/min)10min。取上清液1.0ml于5ml具塞玻璃比色管中，加1mol/L NaOH 0.5ml，缓冲液0.5ml，混合掩蔽剂0.7ml，乳化剂OP 0.5ml，PAN 0.5ml，加水至4.0ml后进行测定。分别用本文方法和原子吸收光谱法(AAS)测定10份血清、尿液、发样中的锌和铜，结果以平均值±标准差表示，见表4。经t检验，$P>0.05$，表明两种方法的结果无显著差异。

表4 人血清、尿液、发样分析结果(血清、尿液μmol/L，发样mmol/kg)

样品	元素	本法	AAS法
血清($n=10$)	Zn	13.77 ±3.8	13.5 ±4.6
	Cu	16.1 ±4.88	15.74 ±5.51
尿液($n=10$)	Zn	8.0 ±3.08	7.96 ±2.89
	Cu	0.55 ±0.24	0.598±0.189
发样($n=10$)	Zn	2.75 ±0.61	2.68 ±0.66
	Cu	0.249±0.066	0.235±0.0787

3 方法学讨论

目前体液和组织中微量锌和铜的测定广泛采用原子吸收光谱法和中子活化分析法[3]，这些方法需要昂贵仪器，不便于一般临床实验室采用。临床检验操作规程[1]中推荐的方法采用两个独立的显色体系分光光度法测定血清锌和铜，方法繁琐、费时，文献[4]采用与本文不同的显色体系双波长分光光度法测定血清锌和铜，但未用于尿液和发样的测定，且未用原子吸收光谱法对照。本文方法不经分离，同时测定人血清、尿液、发样中锌和铜，测定结果与文献值一致[5]。方法简单、快速、准确，可用于某些疾病的临床诊断及营养状况评价。

关键词 分光光度测定法；毛发；锌/血液；锌/尿；铜/血液；铜/尿

参考文献

1. 中华人民共和国医政司。全国临床检验操作规程。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

南京：东南大学出版社，1991：182～183
2. Ong CN，Ong HY，Chua LH. Determination of copper and zinc in serum and whole blood by ionexchange chromatography. Anal Biochem，1988；173：64
3. Versieck J，Cornelis R. Trace elements in human plasma and serum. CRC Press Inc，1989：72～74
4. 潘应元 王静兰。双波长分光光度法连续测定血清中铜和锌。化学试剂，1989；43：235
5. Lyengar V，Woiltiez J. Trace elements in human clinical specimens；evaluation of literature data to identify reference values. Clin Chem，1988；34（3）：474

（收稿：1992-08-31；修回：1993-04-20）

胰腺 CT 扫描中口服造影剂的分析

李小鸽 巫北海 （第三军医大学西南医院 CT 室）630038

胰腺 CT 扫描时，往往出现胰头、体、尾部与胃体、十二指肠及空肠部位分辨不清的情况，从而导致诊断困难。为了使胰腺与胃肠道影像区分开来，衬托出胰腺的轮廓与形态，提高诊断正确性，本文作者已在1986～1987年间进行了5种不同浓度的造影剂比较分析，得出2%浓度造影剂为最佳浓度，时间上和剂量上以 300ml 扫描 10min 口服为最优选择[1]。但这只是单纯的十二指肠显示好，而靠近胰尾部的空肠显示较差。故本文作者又以2%浓度造影剂300ml 扫描前30min 口服后扫描前再口服1.5%浓度造影剂200ml 进行分段显示，对比两组，现报道如下：

1 材料与方法

1.1 检测对象

以胰腺扫描病人为主。总数210例，男153例，女57例，最大年龄79岁，最小年龄19岁，平均年龄49岁。

1.2 方法

病人随机分两组，每组105例。每组病人扫描前均空腹4h，做呼吸训练、碘过敏试验，扫描前10min 皮下注射654-2 10mg。1组病人扫描前10min 一次性口服 2%浓度造影剂 300ml；2 组病人扫描前 30min 口服 2%浓度造影剂 300ml，扫描前再服 1.5%的造影剂200ml。两组 CT 片混合起来请两位教授评定，根据不同标准选出优良差。扫描层厚 4mm，层距 4mm，扫描时间 5s，应用 SOMATOM DR3型全身 CT 扫描机检查。造影剂选用上海信谊制药厂的60%泛影葡胺。

1.3 评定照片优良差标准

1.3.1 优：十二指肠、胃体部及空肠全部衬托，显示好，无伪影。

1.3.2 良：十二指肠、胃体部及空肠部份显示，有少许伪影。

1.3.3 差：十二指肠、胃体部及空肠与胰腺及邻近脏器分辨不清，或伪影多。

1.4 统计分析

应用二维例联表、百分比、秩和检验。

2 结果

两组 CT 片优良差及百分比见附表。

附表 两组 CT 片优良差及百分比

	优	良	差	合计（%）
一组	67(64%)	32(30%)	6(6%)	105(100)
二组	102(97%)	3(3%)	0	105(100)
合计	169	35	6	210

$P<0.01$

3 讨论

胰头和钩突均被十二指肠环所包绕，腺体上部由胃内壁衬托，胰尾被空肠所环绕[2,3]。借胃体部、十二指肠及空肠的衬托，可以清晰地显示出整个胰腺的轮廓及形态，对诊断、区别胰腺及胰腺邻近脏器很有帮助，尤其是胰腺炎粘连时及胰腺癌浸润到周围组织

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net