DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.06.009

血硒测定质量控制的探讨

杨冬华 刘为纹（西南医院 消化内科）

提 要 硒是人体必需的微量元素，与人类健康、疾病关系密切。因此，硒水平测定可能有助于人类疾病的防治。本文采用三种质量控制图作为硒测定的方法学考核，并对该图在样品测定监控中的意义进行初步探讨。

关键词 硒；质量控制；微量元素

硒（Selenium, Se）是生物体必需的微量元素之一，与人类健康、疾病及肿瘤关系密切[1]。随着研究的不断深入，正确评价体内的Se状态，在Se反应性疾病的预防和治疗方面具有重要意义。然而，Se测定过程中存在易污染、易损失的问题，因此，严格控制这一环节是确保实验结果可靠性、科学性的主要条件。本文对控制图作为Se测定的方法学考核及样品测定监控的意义作了初步探讨。

材料与方法

一、方法

参照Wafkinson和Cummins等方法[2][3]稍改进。

二、主要试剂及仪器

1. 2，3-二氨基萘（2，3-Diaminonaphthalene DAN AR Fluka AGCH-9470 Switzerland）

2. 荧光分光光度计（MPF-4 Hitachi Japan）

3. 超纯水仪（Barnstead NANO Pure Ⅱ SyBron USA）

4. 精密pH计（φ71 Beckman USA）

三、实验步骤

1. 样品采集：采血器材置10% HNO_3(GR)浸泡>12h，超纯水冲洗3遍后，置真空恒温干燥箱烘干，注射器经高温消毒，血液收集于具塞试管（95°）内。

2. 样品消化及测定：取血1 ml置烧瓶（95°）内，加入5%钼酸钠1 ml和混合酸（硫酸与高氯酸按3∶4体积比）4 ml，置砂浴（180℃）消化至样品呈淡黄色伴大量浓白烟旋绕瓶口止。冷却，加超纯水5 ml，在pH计上用氨或盐酸液（GR）调至pH1.80，加入掩蔽液（0.2mol EDTA和5%盐酸羟胺液）5 ml，移入暗室，加0.1%DAN液3 ml，煮沸5 min，流水冷却至温室。加入环己烷（双蒸后）5 ml，振摇，经分液漏斗分层后，收集有机相（环己烷）层并测定其荧光强度，计算样品Se含量。

结果与讨论

一、仪器条件选择

取0.05、0.10、0.20μg Se^{+4}/ml，按样品消化后，于分光光度计上扫描，选择最灵敏峰谷。激发波长（EX）377nm，发射波长（EM）520nm，狭缝10nm，高压850V，纸/扫速为30/60。

二、硒标准工作曲线绘制 精确取硒标准液（0.05μg/ml）0、0.01、0.05、0.075、0.10、0.15、0.20μg/ml，按样品消化处理，以硒各稀释浓度为横座标，相应的荧光强度为纵座标，用直线回归方程处理后，在座标纸上绘制。

三、反应的最佳酸度与温度

样品内含Se化合物经酸消化成 Se^{+4}，能与DAN反应生成4,5-苯并苤硒脑（4,5-Benzopiaselenol），此络合物具有较强荧光，经环己烷萃取后，测定苤硒脑荧光强度，可计算样品硒含量。苤硒脑生成随酸

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

性条件增加反应速度减慢，反之则相反，其中以pH1.80～2.00强度最佳。煮沸可加速反应，60℃时随时间延长，茎硒脑生成强度缓慢增加，100℃时，5 min反应达最高峰，7 min后，因DAN氧化分解，茎硒脑受破坏，反应强度逐渐减弱。故选择pH1.80，100℃煮沸5 min为本实验条件。

四、DAN最佳剂量

取标准硒0.1、0.2、0.3μg，分别加0.1% DAN液1、3、5 ml，在加入3 mlDAN液后，荧光强度稳定无变化。

五、血硒测定质量控制

1．个值控制图：同一份血作为质控样品，与分析样品同时消化，所获数据(表1)

表1 控制样品血硒值

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
结果μg/ml	0.083	0.087	0.080	0.091	0.085	0.085	0.104	0.096	0.086

绘制控制图（图1）。

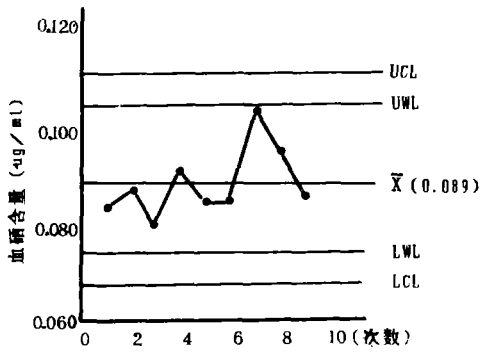


图1 质控样品控制图

UWL（上警戒限）=0.104，LWL（下警戒限）=0.074

UCL（上控制限）=0.111，LCL（下控制限）=0.067

2．极差控制图：同一份血样品的平行样连续测定9次，以观察结果的离中趋势，用于重复试验的精密度控制（表2、图2）

$$\bar{R} = \frac{\Sigma R}{K} = \frac{0.013}{9} = 0.001$$

3．准确度控制图：直接以0.05μg/ml硒标准液加入血样品，测定硒的回收率而制图(表3、图3)。血硒平均回收率为98.3%，变异系数（CV）为1.07%。

六、参考值

本文测定24例正常人血硒水平在0.061～

表2 血硒平行样测定数据

测定顺序K	平行样(n=2) X_1	X_2	均数(μg/ml) $\bar{X}$	极差 R
1	0.076	0.079	0.077	0.003
2	0.077	0.075	0.076	0.002
3	0.076	0.075	0.075	0.001
4	0.077	0.075	0.076	0.002
5	0.076	0.075	0.075	0.001
6	0.076	0.075	0.076	0.001
7	0.076	0.075	0.075	0.001
8	0.076	0.075	0.076	0.001
9	0.075	0.076	0.075	0.001
			0.681	0.013

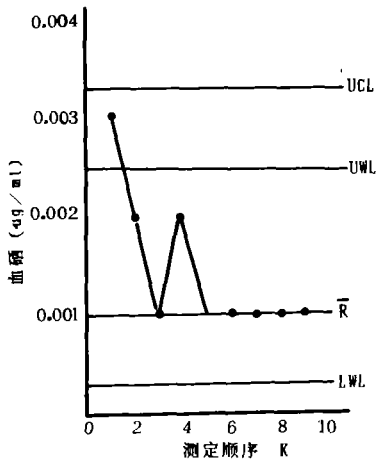


图2 极差控制图

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表3 血硒回收率

测定次数	原含硒量μg	加入标准硒量μg	测定硒数	回收率 μg	回收率 %
1	0.077	0.05	0.126	0.049	98
2	0.077	0.05	0.126	0.049	98
3	0.077	0.05	0.126	0.049	98
4	0.077	0.05	0.125	0.048	96
5	0.077	0.05	0.126	0.049	98
6	0.077	0.05	0.127	0.050	100
7	0.077	0.05	0.127	0.050	100
8	0.077	0.05	0.126	0.049	98

$\bar{P}=98.3$, $S\bar{P}=1.05$, $UCL=101.440$, $LCL=95.16$

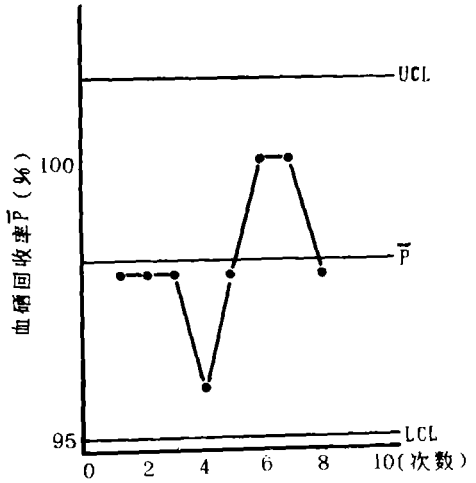


图3 准确度控制图

0.117μg/ml，平均0.083±0.013μg/ml，性别、年龄之间无差异（P>0.05）。本文结果与Westermark等在芬兰南部 Helsinki 地区成人血硒测定结果相一致[4]。

微量元素测定中最重要的问题是防止污染，减少损失，以保证测定结果的准确性和重复性。本文认为（1）试剂、试管和吸管的清洁很重要，未经去离子水源及低纯度化学试剂可干扰测定结果；（2）消化的样品以当天采集并及时处理为宜，以避免污染的机会；（3）样品反应的温度、时间及pH直接影响荙硒脑的生成和荧光强度，应严格控制；（4）每月取同一份血定值后，贮存在-20℃冰箱内保存，作为质控样品；（5）大量样品测定时，可根据质控样品是否全部落在控制限内，而对实验干扰因素进行及时校正，以确保结果的准确性。

参考文献

1. Third International Symposium on Selenium in Biology and Medicine Abstracts 1984; 1:27～66
2. Wafkinson JH. Fluorometric determination of selenium in biological material with 2, 3-diaminonaphtalene. Anal chem 1966; 38(1):92～97
3. Cummins LM, et al. A rapid method for determination of selenium in biological material. Anal Chem 1964; 36(2)382～384
4. Westermark T, et al. Selenium content of whole blood and serum in adults and children of different ages from different parts of Finland. Acta Pharmacol Toxicol 1977; 40(4):465

(收稿：1987.10.13；修回：1988.7.4)

Quality Control of the Blood Selenium Measurement

Yang Donghua and Liu Weiwen (Department of Medicine, Southwest Hospital, Third Military Medical College)

Selenium is one of the essential trace elements for man. A close relationship between the selenium levels and diseases of human beings exists. The determination of selenium may provide a valuable index in prevention and treatment of human diseases. 3 quantitative control diagrams are used as means of method examination in determination fo selenium. The role of control diagram in determination procedure is discussed.

Key words: Selenium; Quality control; Trace elements

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net