

离子选择电极测定血浆中的总钙

DETERMINATION OF TOTAL CALCIUM IN PLASMA
BY ION-SELECTIVE ELECTRODE

黄 治 勤 游 波 雷 清 如
Huang Zhiging You Bo Lei Qingru
李 忠* 彭 学 福*
Li Zhong Peng Xuefu

(应用化学系)

摘 要 本文着重对用离子选择电极测定血浆中的总钙的测定条件进行了研究,并拟定了测定方法。离子强度调节缓冲液为0.1mol/L KCl-PH 7的0.12mol/L 三乙醇胺(TEA)的盐酸溶液,干扰离子的掩蔽剂为0.004mol/L乙酰丙酮,血浆矿化剂为 HNO_3-HClO_4 (3:1)。电极响应时间3min,标准曲线线性范围为0.8~100 $\mu\text{g/ml}$; 相关系数0.9998; 测定下限0.8 $\mu\text{g/ml}$ 。此法测定血浆总钙的标准差为 ± 0.1 mg, 变动系数5.4%, 回收率99.3~103.9%。本法结果与用甲基麝香草酚蓝为试剂的比色法一致。

主题词 离子选择电极; 钙; 血浆; 测定
中国图书资料分类法分类号 O657.129

R446.11

ABSTRACT In this paper, an emphatical study of the conditions for the determination of total calcium in plasma by ion-selective electrode is made and the methods of determination are worked out. The ionic strength buffer solution is 0.12 mol/L TEA hydrochloric acid solution of 0.1 mol/L KCl-PH=7. The interference camouflaging agent is 0.004 mol/L acetyl acetone. The plasma nitrated agent is HNO_3-HClO_4 (3:1). The electrode responsetime is five minutes. The standard curved linearity range is 0.8 ~100 $\mu\text{g/ml}$. The interrelated coefficient is 0.9998, and the prescribed minium of determination is 0.8 $\mu\text{g/ml}$. When the present method is used to determine the total calcium in plasma, the standard deviation is ± 0.1 mg, the coefficient of variation, 5.4%, the recovery rate 99.3~103.9%. The result of this method is consistent with the colorimetry which uses methyl thymol blue as reagent.

收文日期 1989年10月26日
• 85级本科毕业生

SUBJECT WORDS ion-selective electrode; calcium; plasma; determination

人体血液中钙的含量是诊断和研究某些疾病的重要依据，是临床检验的项目之一。血浆中的钙包括游离钙和结合钙。用离子选择电极法测定全血中的游离钙，是目前国内外首选的方法，但抗凝剂肝素对游离钙有结合作用，其用量的影响尚未引起注意⁽¹⁾。在国内，用离子选择电极法测定血浆中钙的报导也较少。故此，我们着重对用离子选择电极测定血浆中的总钙的测定条件进行了研究，并拟定了一种有实用意义的测定血浆中总钙的方法。

一、仪器与试剂

(一) 仪器 钙离子选择电极402型(江苏电分析仪器厂)，217型甘汞电极，PXJ-1型数字式离子计。

(二) 试剂 碳酸钙为基准物质。三乙醇胺(TEA)、乙酰丙酮、氯化钾、盐酸、硝酸、高氯酸均为分析纯。

二、试液基本性态及实验条件的选取

(一) 最佳酸度的选择

离子选择电极对测试溶液的PH值要求比较严格。为此，我们配制了不同浓度的 Ca^{2+} 标准液用0.05 mol/L的HCl和0.05 mol/L的NaOH调节其PH值，并测量出不同PH值下的电位值E。根据试验数据绘制的E~PH曲线见图1。其最佳酸度为PH7。

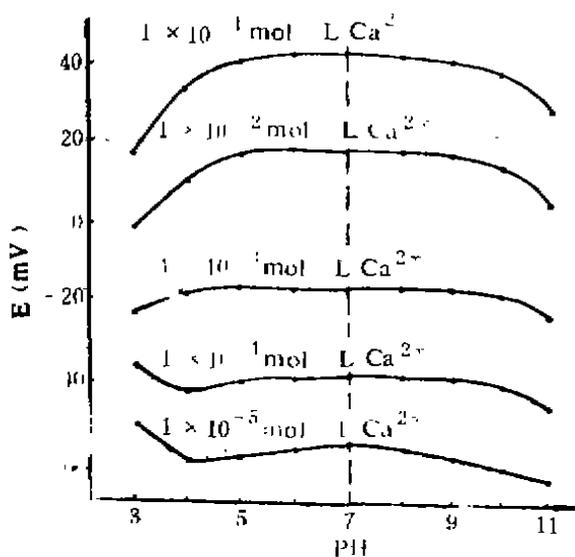


图1 钙电极的E~PH曲线

(二) TEA缓冲液的最佳浓度的选择

在PH7和采用不同浓度的TEA，用标准加入法，测定含 Ca^{2+} 19.89 μ g/ml的标准溶液，结果见表1。可以看出，在TEA为0.12 mol/L时，测定结果最接近真实值。

(三) 电极响应时间的选择

在上述PH7的TEA~HCl缓冲液中，保持KCl的浓度为0.1 mol/L的条件下，测出钙电极在不同 Ca^{2+} 浓度时其电位值随时间的变化曲线。见图2。由上述曲线可以看到3分钟后响应趋于平稳(包括空白溶液)。

表1 TEA浓度对测定结果的影响

TEA(mol/L)	0.012	0.04	0.12	0.40
E_1 (mv)	-17.3	-16.4	-15.6	-14.6
E_2 (mv)	-26.5	-25.5	-24.3	-23.1
ΔC %	-9.5	-7.0	-1.0	+2.6
$C_{Ca^{2+}}$ (μ g/ml)	18.0	18.5	19.7	20.4

(四) 干扰离子的掩蔽

根据血浆的组成和钙电极的选择系数, 试液中的干扰离子有 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 。考虑到配合物的稳定常数及选择性, 我们选用乙酰丙酮为掩蔽剂⁽²⁾。在含 Ca^{2+} 19.89 $\mu g/ml$ 的

表2 乙酰丙酮浓度对测定的影响

乙酰丙酮(mol/L)	0	0.0004	0.001	0.004	0.010
E_1 (mv)	-28.0	-24.4	-20.8	-17.8	-15.2
E_2 (mv)	-20.5	-16.0	-12.2	-9.2	-6.4
ΔC %	+17.8	+4.1	+2.6	+0.6	-3.4
实测 Ca^{2+} ($\mu g/ml$)	24.0	20.7	20.4	20.0	19.4

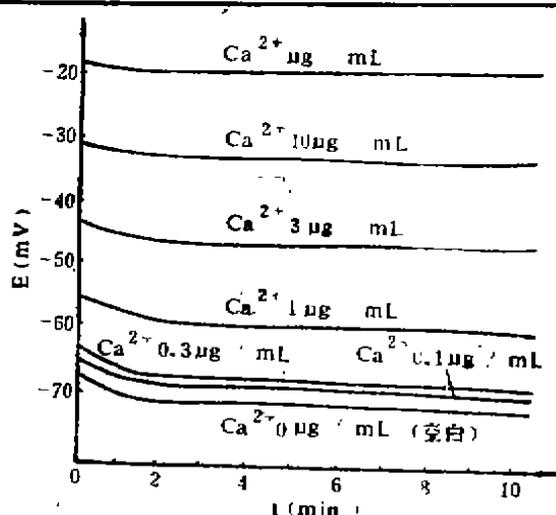


图2 钙电极的时间响应曲线

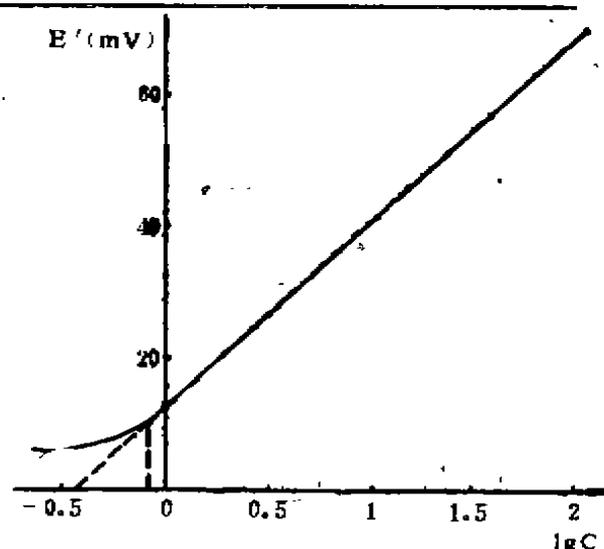


图3 $E' \sim \lg C$ 标准曲线

标准溶液中, 模拟血浆中干扰离子的含量, 分别加入浓度为5.0、1.0、0.5、1.0 $\mu g/ml$ 的 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 再分别用不同浓度的乙酰丙酮掩蔽, 测试其掩蔽效果。结果见表2。从表可见, 用0.004 mol/L 乙酰丙酮的效果最好。

(五) 校正曲线

按上述选定的条件, 测试一系列 Ca^{2+} 标准溶液的电位值并扣除空白值后, 将结果绘制成如图3所示的 $E' - \lg C$ 标准曲线 (图中 C 为 Ca^{2+} 浓度) 标准曲线的斜率 (S) 为28.6; 相关系数0.9998; 检测下限为0.8 $\mu g/ml$; 线性范围为0.8~100 $\mu g/ml$ 。

三、血浆中钙的测定

(一) 采用标准加入法测定血浆中总钙的原理

先在体积为 V_x (ml)、浓度为 C_x (mg/ml) 的试样中测取其电位值 E_1 (mv)。然后, 用重蒸水洗净电极, 用滤纸吸去水分, 在试样溶液中加入体积为 V_s (ml)、浓度为 C_s (mg/ml) 的标准溶液, 搅拌均匀, 再测量其电位值 E_2 。根据所得的电位值, 可求解下列两联立能斯特方程式:

$$E_1 = \text{常数} + S \lg C_x$$

$$E_2 = \text{常数} + S \lg \left(\frac{C_x V_x + C_s V_s}{V_x + V_s} \right)$$

我们控制 $V_s < 1\% V_x$, $C_s > 100 C_x$, 使加入标准溶液后, 测量体积可视为不变。这样, 上述联立方程式可简化成为下列标准加入法计算式(3):

$$C_x = \Delta C \left(10^{\frac{\Delta E}{S}} - 1 \right)^{-1} \quad (1)$$

式中: $\Delta C = \frac{C_s V_s}{V_x}$ —— 为标准加入增量;

ΔE —— 为 E_1 与 E_2 的差值;

S —— 为标准曲线的斜率。

为便于应用, 可事先依 ΔE 的一定增量顺序, 将函数 $\left(10^{\frac{\Delta E}{S}} - 1 \right)^{-1}$ 列成数值表。

在实际测量中, 我们是取 1.0ml 血浆, 经预处理后, 稀释至 25.0ml 进行测量, 所以血浆中钙的含量 (mg/ml) 可按下式计算:

$$Ca^{2+} = 25 \times \Delta C \left(10^{\frac{\Delta E}{S}} - 1 \right)^{-1} \quad (2)$$

(二) 测定方法

1. 预处理 吸取 1.0 ml 血浆于 50 ml 锥形瓶中, 加入 2.0 ml 按 3:1 配制的浓 ($HNO_3 \sim HClO_4$) 混酸, 加热至 170~180℃ 消化近干, 再加 2.0 ml 混酸, 消化至不冒白烟。残渣用重蒸水溶解, 转入 25 ml 容量瓶中。小心洗涤锥形瓶三次并入容量瓶。再加入 2.0 mol/L KCl 溶液 1.3 ml、1.0 mol/L TEA~HCl (PH 7) 缓冲液 3.0 ml、0.1 mol/L 乙酰丙酮 1.0 ml。用重蒸水稀释至刻度, 摇匀。

2. 测量 将 25.0 ml 试液倾入干燥清洁的 50 ml 烧杯中, 加入搅拌子, 调整离子计的温度旋钮于 25℃, 在适当的搅拌速率下, 用钙电极与甘汞电极组成的电极对, 测得电位值 E_1 。然后, 用重蒸水洗净电极, 以滤纸吸干水分, 在试液中加入浓度为 0.200 mg/ml 的 Ca^{2+} 标准溶液 0.10 ml, 搅拌均匀, 读取电位值 E_2 。最后, 按 (2) 式求出血浆中钙的含量, 并换算为 mg/dl 值。

表3 Ca^{2+} 回收试验

编号	试样量 (ml)	试样含 Ca^{2+} (mg/ml)	加入 Ca^{2+} (mg)	检出 Ca^{2+} (mg/ml)	回收率 (%)
1	1.0	0.1684	0.200	0.3674	97.0
2	1.0	0.1684	0.200	0.3728	101.2
3	1.0	0.1562	0.200	0.3701	103.9
4	1.0	0.1740	0.200	0.3489	93.3
5	1.0	0.1740	0.200	0.3594	96.1

3. 结果 对10例血浆样品 每例平行测定三次,求其平均值,得出钙的含量是19.16、16.53、14.06、19.68、13.62、16.63、18.56、15.67、17.46、16.85 (mg/dl)。对一份混合血浆,平行测定七次的结果,标准偏差为 $\pm 0.1\text{mg}$,变动系数5.4%。

4. 回收率 在试样中加入 0.200mg Ca^{2+} 标准与未加标准的平行试样,同时进行预处理,同样配成试液后,在相同条件下采用标准加入法进行测定。其结果见表3。

参 考 文 献

- (1) 沈雁,离子选择电极法测定全血游离钙时抗凝剂肝素浓度的选择。临床检验杂志, 1989, 7(3): 137
- (2) 中南矿冶学院分析化学教研室。化学分析手册。北京科技出版社, 1982, 103
- (3) Gary D. Christian. Analytical Chemistry. 2nd ed. London Sydney Toronto, 1977