

石墨炉原子吸收法检测新生儿胎粪铅水平

李燕, 徐锡金, 刘俊晓, 郑良楷, 陈刚建, 陈松建, 霍霞*

汕头大学医学院中心实验室, 广东 汕头 515031

摘要 用硝酸消化新生儿胎粪铅含量的石墨炉原子吸收法(GFAAS)测定了144例新生儿胎粪铅的含量。0.3 g胎粪于60℃烤箱烘烤过夜, 80℃水浴下以HNO₃和H₂O₂顺序消化1 h后定容至2 mL。用D₂灯校正背景, 样本基体匹配标准曲线法测定。实验组93例胎粪样本, 铅平均值为1.934 μg·g⁻¹, 标准差(SD)为1.551; 对照组51例样本, 平均值为1.012 μg·g⁻¹, 标准差(SD)为1.084。实验组平均值明显高于对照组, 两组均值比较做t检验p=0.000, p<0.05, 两组均值在统计学上有显著差异。所建立的胎粪铅检测方法稳定, 简便可行。

关键词 胎粪; 铅; 原子吸收法

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2008)02-0447-03

引言

铅能通过胎盘屏障^[1,2], 妊娠期铅暴露可造成新生儿发育异常, 尤其对神经系统的发育造成较大影响^[3-8]。因此检测妊娠期铅暴露水平^[9], 及早发现并预防铅危害尤其重要。一般用检测新生儿脐带血铅含量来反应妊娠期铅暴露水平, 但新生儿脐带血铅水平不能代表整个妊娠过程铅的累积。胎粪主要来自通过胎儿消化道分泌的消化液、肠道脱落的上皮和胎儿吞咽的羊水及皮脂, 从妊娠开始到出生后24 h, 胎粪中铅水平反应整个妊娠期间的新生儿肠道铅暴露水平^[10]。关于胎粪铅检测方法, 未见有文献报道。本实验参考张源等报道的组织消化方法^[11,12], 根据胎粪成分的特点, 建立了快速准确测定胎粪铅的GFAAS方法。

1 实验部分

1.1 仪器及工作条件

日本岛津AA-660型原子吸收分光光度计, GFA-4B石墨炉原子化器, ASC-60G自动进样器, Eppendorf微量移液管, 铅空心阴极灯, 石墨管(206-69984日本岛津公司)。

工作条件: 波长283.3 nm, 狭宽1.0 nm, 工作电流10 mA, BGC-D₂类型测量峰高, 进样体积10 μL, 水压0.5 kg·cm⁻², 气压2.5 kg·cm⁻², 石墨炉加热程序见表1。

Table 1 Furnace programme

步骤	温度/℃	时间/s	加热方式
干燥	150	30	斜坡
灰化	325	40	保持
原子化	<1 400	4	保持
清除	2 000	2	保持
冷却	0	20	保持

1.2 标准溶液及试剂

从10×10⁻⁶ mol·L⁻¹硝酸铅标准储备液(购自国家钢铁材料测试中心)中分别取0, 100, 200, 400 μL加入4个10 mL容量瓶中, 用超纯水定容至刻度, 制备成0.0, 100, 200, 400 μg·L⁻¹的系列标准应用液。HNO₃为优级纯。超纯水为18.2 MΩ·cm水。30% H₂O₂为分析纯。

1.3 实验方法

实验组取汕头潮阳贵屿当地医院妇产科新生儿胎粪93例, 对照组取汕头潮南民生医院妇产科新生儿胎粪51例。新生儿出生后, 统一使用一次性纸尿裤, 用干净干燥的玻璃棒收集新生儿出生后24 h内胎粪5~10 g, 放入去铅处理过的10 mL离心管中, -20℃冷冻保存。

1.4 样品处理

取约0.3 g鲜湿胎粪于10 mL消化管中, 60℃烤箱烘烤过夜。烘干后加入0.5 mL优级纯的硝酸, 80℃水浴1 h(水

收稿日期: 2006-11-02, 修订日期: 2007-01-28

基金项目: 广东省自然科学基金项目(5008352)和教育部留学回国人员科研启动基金项目资助

作者简介: 李燕, 女, 1968年生, 汕头大学医学院中心实验室副教授 e-mail: liyan2005bo@163.com

* 通讯联系人 e-mail: xhuo@stu.edu.cn

浴起始温度不宜太高,应由室温缓慢升温,以防温度骤升引起剧烈反应)。待消化管中的胎粪消失,颜色转为澄清透明的深黄色或红棕色后,将消化管从水浴中拿出,在通风厨中打开盖子,放净棕红色气体,溶液保持一定的余温,向管内滴加 30% 的双氧水 0.5 mL,并不断振荡,溶液颜色转淡。冷却后用超纯水定容至 2 mL。

2 结果与讨论

2.1 基体改进剂的效果

胎粪的成份包括胃肠分泌液、胆汁、胰液、各种消化酶、及吞咽羊水中不被吸收的胎脂、角化上皮细胞、肠内物质形成的钙皂晶体、无机盐类、以及脂肪、胆酸盐、胆红素等衍生物,相对组织来说,胎粪有机物比较少,无机物比较多。无机成分较多会造成高背景的干扰,所以必须加基体改进剂以提高灰化温度消除这种干扰。本实验选用 0.2% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 溶液作基体改进剂,可提高灰化温度,降低背景,而铅信号几乎没有任何损失。此时, D_2 校正可以满足测定要求。

2.2 标准曲线

取对照组一例胎粪 0.3 g,按上述消化法消化后,吸取消化液各 500 μL ,加入 4 支 2 mL 聚乙烯塑料管内,再依次加入铅标准应用液 0, 100, 200, 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 各 100 μL ,最后加入 400 μL 的化学改进剂,立即在混匀器上充分混匀。同时按样品消化法制备一个试剂空白。以 4 个管内铅浓度制备

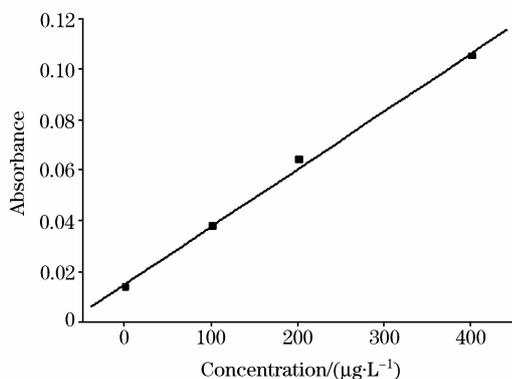


Fig. 1 Standard curve

标准曲线(如图 1)。所得的曲线方程为: $c = mA + n$, 相关方程系数 $m = 4.410\text{E}+03$, $n = -7.067\text{E}+01$ 。

2.3 样品分析

按上述消化法消化实验组和对照组共 144 份胎粪,取胎粪消化液 500 μL ,加 500 μL 化学改进剂,上机测定消化液中铅浓度($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),然后按下式计算胎粪中铅浓度($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

$$c_{\text{样}} = nc_{\text{液}} V \cdot (1000 m)^{-1}$$

$c_{\text{样}}$ 为实际样品含铅量, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; n 为消化液稀释到上机待测液的倍数; V 为稀释前体积, mL; $c_{\text{液}}$ 为原子吸收测定的样液浓度, $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; m 为称样量, g。

检测实验组与对照组胎粪铅浓度统计分析如表 1。结果显示,实验组共测定 93 例,平均值为 1.934 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,标准差是 1.551。对照组 51 例,平均值为 1.012 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,标准差是 1.084。实验组平均值高于对照组。两组比较做 t 检验,得出结果 $p = 0.000$, $p < 0.05$,两组有显著性差异。

Table 2 Statistical analysis of lead levels in meconium

组	样本数	平均值	标准差	标准误
实验组	93	1.938	1.548	0.160 50
对照组	51	1.012	1.084	0.151 74

t 检验 $p = 0.000$, $p < 0.05$ 两组有显著性差异

2.4 讨论

本实验结果显示新生儿胎粪铅水平实验组高于对照组,即贵屿地区明显高于周围其他乡镇。而且本课题组同时检测了新生儿脐带血铅值,贵屿实验组脐带血铅值均数为 113.280 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,对照组为 60.433 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,两组比较有显著性差异($P = 0.000$),实验组明显高于对照组,与胎粪铅的检测结果一致,说明该胎粪铅检测方法能有效反应新生儿体内铅水平,而且胎粪取材方便创伤,保存容易,运输方便,故该方法的建立对新生儿铅负荷的检测评估具有一定的意义。

我们所取材医院地处汕头贵屿镇,是电子垃圾处理集散地,有报道贵屿地下水、粉尘、河道淤泥等铅、镉、铬等重金属含量超标^[13,14],儿童血铅、铬等值超标^[5]。本实验结果显示新生儿胎粪铅水平贵屿地区明显高于周围其他乡镇,说明贵屿地区铅污染已危及下一代,如果不及时采取措施,制止和改善污染,将会对未来的人口质量产生重大影响。

参 考 文 献

- [1] Butler W J, Housemans J, Seddon L, et al. *Environmental Research*, 2006, 100(3): 295.
- [2] Harville E W, Hertz-Picciotto I, Schramm M, et al. *Occupational and Environmental Medicine*, 2005, 62(4): 263.
- [3] Chiodo L M, Jacobson S W, Jacobson J L. *Neurotoxicol Teratol*, 2004, 26(3): 359.
- [4] Emory E, Pattillo R, Archibold E, et al. *American Journal of Obstetrics Gynecology*, 1999, 181(1): S2.
- [5] ATSDR(Agency for Toxic Substances and Disease Registry) Case Studies in Environmental Medicine (CSEM) Lead Toxicity Clinical Evaluation. 2000. Available: <http://www.atsdr.cdc.gov/HEC/CSEM/lead/>[Accessed August 31, 2006].
- [6] Baghurst P A, McMichael A J, Wigg N R, et al. *New England Journal of Medicine*, 1992, 327: 1279.
- [7] Bellinger D. *Child Neuropsychol*, 1995, 3: 12.
- [8] Bernard S M, McGeehin M A. *Pediatrics*, 2003, 112: 1308.
- [9] Lourdes Schnaas, Stephen J Rothenberg, Maria-Fernanda Flores, et al. *Environmental Health Perspectives*, 2006, 114: 791.
- [10] Ye Ping, Liu Xiao-xian, Ke Fu-rong, et al. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation(中国临床康复)*, 2005, 9: 190.
- [11] ZHANG Yuan, LUO Wen-hong, LI Hui, et al(张 源, 罗文鸿, 李 慧, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2004, 24(4): 487.
- [12] ZHANG Yuan, LIN Zhe-xuan, LI Hui, et al(张 源, 林哲绚, 李 慧, 等). *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)*, 2004, 32(11): 1421.
- [13] Yu X Z, Gao Y, Wu S C, et al. *Chemosphere*, 2006, 65: 1500.
- [14] Coby S C, Wong S C, Wu Nurdan S, et al. *Environmental Pollution*, 2007, 145: 434.
- [15] Huo X, Peng L, Xu X J, et al. *Environmental Health Perspectives*, 2007, 115: 1113.
- [16] LI Yan, HUO Xia, ZHENG Liang-kai, et al(李 燕, 霍 霞, 郑良楷, 等). *Carcinogenesis Teratogenesis and Mutagenesis(癌变、畸变、突变)*, 2007, 19(5): 409.

Determination of Meconium Lead Level of Newborn by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

LI Yan, XU Xi-jin, LIU Jun-xiao, ZHENG Liang-kai, CHEN Gang-jian, CHEN Song-jian, HUO Xia*
Central Laboratory, Shantou University Medical College, Shantou 515031, China

Abstract To establish a method for the determination of lead in meconium from 144 samples of newborn through nitric acid digestion by means of graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Methods:** after being baked for at least 12 h at 60 °C, 0.3 g of meconium was digested by nitric acid and hydrogen peroxide in turn at 80 °C under water-bath condition for 1h and then metered to the whole volume of to 2 mL. After correcting the background with D₂ lamp, specimen basal corpuscle matched standard curve was used to detect the lead content. **Results:** The mean lead content of 93 experimental samples was 1.934 μg · g⁻¹ with the standard deviation (SD) of 1.551, and that of the 51 control samples was 1.012 μg · g⁻¹, with the SD of 1.084. There was a significant difference in lead levels of in meconium between the experimental group and control group (*p*=0.000). **Conclusion:** The lead content of the experimental was significantly higher than that of the control group detected by this method. This method was stable and efficient.

Keywords Meconium; Lead; Atomic absorption

(Received Nov. 2, 2006; accepted Jan. 28, 2007)

* Corresponding author