

· 论 著 ·

# 石墨炉原子吸收光谱分析法测定大鼠前列腺组织中的镉含量

曹显庆<sup>1</sup>, 逯岭松<sup>2</sup>, 谢国明<sup>2△</sup>

(重庆医科大学; 1. 公共卫生学院; 2. 医学检验系 400016)

**摘要:**目的 寻找可以消除大鼠前列腺组织中对镉检测产生干扰的基体改进剂, 建立一种采用石墨炉原子吸收分光光度计准确测定大鼠前列腺组织中镉含量的新方法。方法 取大鼠前列腺组织样本, 用基体改进剂(1.0% HNO<sub>3</sub> + 0.5% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)进行稀释。使用 Z-5000 石墨炉原子吸收光谱仪全自动进样方法进行测定。结果 在最适反应条件下, 检测大鼠前列腺组织样本相对标准偏差(RSD)为 0.12%~4.62%, 回收率为 95.8%~104.3%。结论 石墨炉原子吸收光谱分析法是一种理想的检测大鼠前列腺组织中镉含量的方法, 具有良好的准确度和精密度。

**关键词:** 镉; 分光光度法; 原子; 基体改进剂; 大鼠; 前列腺

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.02.007

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)02-0120-02

## Determination of cadmium in prostate of the rats by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry

Cao Xianqing<sup>1</sup>, Lu Lingsong<sup>2</sup>, Xie Guoming<sup>2△</sup>

(1. College of Public Health; 2. Department of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract: Objective** To develop an accurate method for determination of cadmium in prostate of the rats by the graphite furnace atomic absorption spectrometry(GFAAS) using suitable matrix modifier to eliminate the matrix interference in prostate of the rats. **Methods** After the sample was diluted by 1.0% HNO<sub>3</sub> + 0.5% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, the cadmium in prostate of the rats was determined by GFAAS. **Results** Under the optimum experimental conditions, the relative standard deviation of the method was 0.12% to 4.62%, and recovery was 95.8% to 104.3%. **Conclusion** The method is good for determination of cadmium in prostate of the rats and accurate with good correction and precision.

**Key words:** cadmium; spectrophotometry; atomic; matrix modifier; rats; prostate

前列腺癌为老年男性常见恶性疾病之一, 其发病率居全球男性癌症发病率的第 3 位, 病死率居第 6 位<sup>[1]</sup>。镉(Cd)是一种有毒重金属, 属于环境毒素, 在人体内可蓄积 50 年左右, 能对多种器官和组织造成损害, 大量实验证实镉是前列腺致癌物<sup>[2-3]</sup>。前列腺癌组织中镉含量明显增高<sup>[4]</sup>。镉的检测需要一些敏感性比较高的分析技术, 配对等离子体质谱法(ICP-MS)被用于镉的检测<sup>[5-6]</sup>, 然而, 这种技术所需设备过于昂贵。用配对等离子体可见光谱法(ICP-OES)对镉进行测定, 检测的敏感性不高, 而且测定前必须进行预浓缩或预分离<sup>[7]</sup>。石墨炉原子吸收光谱分析法因其操作简单, 检测的高度敏感性和专一性, 是检测生物样本中低含量镉的最为普遍的方法。在过去的几年中, 不同的化学修饰物被报道作为基体改进剂用于镉检测, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 是最传统的、应用最广泛的基体改进剂<sup>[8]</sup>, 用于反应中使分析物保持稳定并除去背景干扰。在被测定样品中加入具有针对性的基体改进剂, 提高原子化温度, 以确保在灰化阶段既能将干扰物质去除, 又不损失被测物质。本文以 1.0% HNO<sub>3</sub> + 0.5% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 作为基体改进剂, 用石墨炉原子吸收光谱分析法测定大鼠前列腺组织中的镉含量, 对化学改进剂及其用量、石墨炉工作条件进行研究, 现将结果报道如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 仪器** 日立 Z-5000 型原子分光光度计, 配置 THGA 石墨炉、热解涂层平台石墨管、zeeman 偏振效应背景校正器、AS-71 自动进样器、镉空心阴极灯、millipore 纯水机等。

**1.2 试剂与溶液** HClO<sub>4</sub> (优级纯)、浓 HNO<sub>3</sub> (优级纯)、

NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (分析纯)、氯化镉溶液(分析纯)、生理盐水、Cd 标准溶液 1 000 μg/mL(国家有色金属及电子材料分析测试中心 GSB 04-1721-2004), 并用 1% HNO<sub>3</sub> 逐渐稀释成 0、0.5、1.0、2.0、4.0、5.0 μg/mL 的溶液, 以上所用试液均用超纯水配制。

**1.3 样本来源** 取健康成年大鼠 20 只, 体质量 190~230 g, 每只于前列腺内注射 0.1% 氯化镉(生理盐水配制)1 次, 剂量为 2 mg/kg 体质量。

**1.4 样品的初步处理** 用超纯水多次洗涤后, 将大鼠前列腺组织样品放入真空干燥箱中于 90 °C 烘干 2 h 备用。样品的消化: 用分析天平准确称取烘干的组织样品, 加入消化液(浓硝酸: 高氯酸=7:3)后盖上表面皿, 放在电炉上先小火加热至样品溶解, 随后在电热板上将温度调至 200 °C, 消化至液体由黄色变为无色, 蒸发近干, 用 1.0% HNO<sub>3</sub> 溶液溶解剩余残渣, 定容备用。

**1.5 检测原理** 取得测样本, 加入基体改进剂后, 经石墨炉原子化器和 zeeman 偏振效应背景校正器进行原子化和背景校正, 测定吸光度, 通过标准曲线求得 Cd 含量。

**1.6 石墨炉升温程序** 石墨炉原子吸收测定过程包括干燥、灰化和原子化 3 个阶段, 其中 Cd 的挥发和其他杂质的干扰易发生在灰化和原子化阶段。实验选择 1.0% HNO<sub>3</sub> + 0.5% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 作为基体改进剂, 主要用于提高样品的灰化效率和 Cd 的原子化效率, 见表 1。

### 2 结 果

**2.1 标准曲线与回归方程** 分别吸取 Cd 标准溶液 1 000 μg/

△ 通讯作者, 电话: (023)68485388; E-mail: guomingxie@cqmu.edu.cn。

mL,并用 1% HNO<sub>3</sub> 逐渐稀释成 0、0.5、1.0、2.0、4.0、5.0 μg/mL 的溶液。在选定的试验条件下,测定样品的吸光度,仪器自动绘制标准曲线,见图 1。可以看出,Cd 标准溶液浓度在 0.5~5.0 μg/mL 范围内,与吸光度线性相关关系良好。回归方程为:Y=0.056 1+0.070 4X,r=0.994 9。从回归方程可以看出,该方法的灵敏度高,线性关系好。

表 1 石墨炉升温程序

程序	温度(°C)	保留时间(s)	升温方式	气体流量(mL/min)
干燥	140	40	斜坡	200
灰化	300	20	斜坡	200
原子化	1 500	5	陡坡	30
清除	1 800	4	陡坡	200

2.2 方法的准确度 加标回收实验用 3 份样本分别加入 20.00 μg/mL Cd 的标准溶液进行测定,结果见表 2。

表 2 加标回收实验结果

样本编号	本底值(μg/mL)	加标量(μg/mL)	加标测量值(μg/mL)	回收率(%)
1	5.06	20.00	24.22	95.8
2	3.50	20.00	24.36	104.3
3	4.71	20.00	24.61	99.5

2.3 方法的精密度 将初步处理的样本按制备标准曲线的条件随机抽取 5 个试样,进行 3 次测定,RSD 值均小于 5%,在允许范围内,所得结果见表 3。

表 3 精密度实验结果

样本编号	第 1 次测定值(μg/mL)	第 2 次测定值(μg/mL)	第 3 次测定值(μg/mL)	平均值(μg/mL)	标准差	RSD(%)
1	3.09	3.08	3.11	3.10	0.038	1.23
2	4.66	5.25	4.89	4.78	0.17	3.91
3	4.84	4.70	4.69	5.45	0.08	1.51
4	4.06	3.96	4.12	4.04	0.08	1.96
5	5.22	5.35	5.29	5.27	0.02	0.46

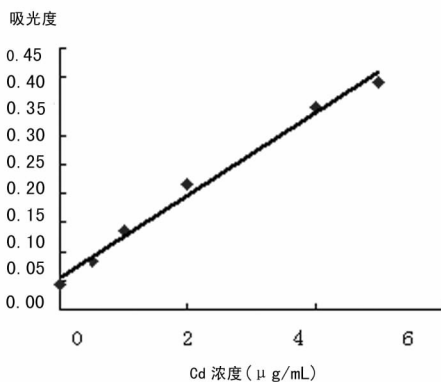


图 1 标准曲线

3 讨论

3.1 样品最佳消化方法的选择 用不同的混合酸对样品进行消解处理。结果表明,采用浓硫酸易使样品碳化,使消解不完全;而使用过氧化氢和硝酸、硝酸和盐酸以不同比例混合较费时,且有时消解不完全。当使用浓硝酸与高氯酸混合时,消解效果最好,并且实验中发现当浓硝酸和高氯酸以 7:3 比例混合时,样品消解时间最短,消解最完全,对各种类型的组织样品均有较好的消化效果。

3.2 基体改进剂的选择 基于大鼠前列腺组织中基体成分复杂,直接测定需将灰化温度提高以降低背景干扰,而 Cd 的沸点较低(767 °C),是易挥发元素,当无基体改进剂时,温度超过 200 °C 时就会在石墨喷雾器处挥发,使测定结果不准确。通过添加基体改进剂的方法进行改进,基体改进剂主要是用来改善石墨炉原子吸收中待测元素的热稳定性,允许灰化阶段采用更高的灰化温度,保证待测元素原子化前没有损失,从而提高测定结果的准确性。文献[7]提出用 PdCl<sub>2</sub>-Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 作基体改

进剂,灰化温度可达 600 °C 左右,但实际操作步骤繁琐,预处理时间长,所用试剂量大,容易造成试剂污染和待测物质的损失。本实验用 1.0% HNO<sub>3</sub> + 0.5% NH<sub>4</sub> H<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 作为基体改进剂,可提高灰化温度至 650 °C,防止镉的挥发,即使在灰化阶段采取较高的温度也可保持稳定。此外,大鼠前列腺组织的成分比较复杂,用石墨炉原子吸收光谱分析法检测时,基体中的其他物质易产生干扰,文献[9]用 NH<sub>4</sub> NO<sub>3</sub>-Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 联合基体改进剂直接检测海水中的痕量 Cd,当加入 NH<sub>4</sub> NO<sub>3</sub>-Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 时能够对海水的基体干扰起到很好的抑制作用,但是在绘制标准曲线时出现的峰形不好;使用 Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 作为基体改进剂测定 Cd 标准样品时的响应信号稳定,但是用这种基体改进剂测定大鼠前列腺组织样本时所得到的响应信号较差。本实验还加入适当浓度的 HNO<sub>3</sub> 用于分解大鼠前列腺组织中的有机物,能将氯化物转化成易挥发的硝酸盐和氯化氢,考虑到高浓度的 HNO<sub>3</sub> 会减短石墨管的寿命,本实验将 HNO<sub>3</sub> 的浓度设定为 1.0%。经反复实验后发现,在大鼠前列腺组织 Cd 含量检测中使用该基体改进剂效果显著,1.0% HNO<sub>3</sub> + 0.5% NH<sub>4</sub> H<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 可有效地降低背景吸收,并且不需要复杂的化学前处理,从而达到直接测定的目的。本实验结果显示,使用 1.0% HNO<sub>3</sub> + 0.5% NH<sub>4</sub> H<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 作为基体改进剂时,有利于有效地分离背景吸收信号和原子吸收信号,提高原子化效率,Cd 的吸光度明显增强。

本文通过使用添加了 1.0% HNO<sub>3</sub> + 0.5% NH<sub>4</sub> H<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 基体改进剂的石墨炉原子吸收光谱分析法测定大鼠前列腺组织中的 Cd 含量,具有良好的准确度与精密度,并且简单,快速,是一种理想的检测镉的方法。使用该方法可用于研究大鼠前列腺组织镉含量与前列腺癌进展的相互关系,在临床诊断前列腺癌、生物医学、化学毒物分析方面有很好的应用前景。

细胞活化为具有纤维化活性的肌成纤维细胞这一效应,从而拮抗其致纤维化活性。它对细胞外基质蛋白,如胶原、纤维连接蛋白等的生成也有显著的抑制作用。有实验证明 IFN- $\gamma$  可以下调小鼠巨噬细胞中 TGF- $\beta_1$  的过度表达,从而下调前胶原的表达,使间质中胶原积聚减少<sup>[7]</sup>。因此,细胞因子网络能影响 IPF 疾病过程中成纤维细胞的活化、增殖及胶原的沉积<sup>[3]</sup>。

甘草酸二铵是从药用植物甘草根、茎中提取的一种有效的活性成分,具有抗炎、免疫调节、抗氧化、影响内源性类固醇激素和保护细胞膜结构等广泛的药理学作用<sup>[8]</sup>。有研究表明甘草酸二铵可以抑制活化的巨噬细胞分泌炎症因子,如 IL-4、TGF- $\beta_1$  等<sup>[9]</sup>;还可以抑制嗜酸性粒细胞活化趋化因子的分泌,而嗜酸性粒细胞活化趋化因子可以募集嗜酸性粒细胞并促进其分泌其他的炎症因子,如 IL-4、IL-5、TGF- $\beta_1$  等<sup>[10]</sup>。本实验结果显示,甘草酸二铵组大鼠 HE 染色显示细胞基膜完好,成纤维细胞的增生及间质胶原纤维的沉积范围及程度显著小于模型组;免疫组化检测表明肺组织内 TGF- $\beta_1$  阳性反应细胞较少,基本为弱阳性反应,强度和范围显著小于模型组,这与叶进燕等<sup>[2]</sup>报道类似;而 IFN- $\gamma$  阳性反应细胞较多,较模型组表达明显。甘草酸二铵组大鼠血清中 TGF- $\beta_1$ 、IL-4 含量明显较模型组低,而 IFN- $\gamma$  则相反。因此本实验结果表明甘草酸二铵可以促进大鼠肺组织分泌 IFN- $\gamma$ ,抑制 IL-4、TGF- $\beta_1$  的生成,具有较强的抗肺纤维化作用。虽然甘草酸二铵组与 DXM 组相比在以上因子的表达方面差异无统计学意义,但甘草酸二铵无盐皮质激素样不良反应。

#### 参考文献:

- [1] Lukacs NW, Hogaboam C, Chensue SW, et al. Type 1/type 2 cytokine paradigm and the progression of pulmonary fibrosis[J]. Chest, 2007, 120(1 Suppl): S5-8.
- [2] 叶进燕, 陈少贤, 徐红蕾, 等. 甘草甜素对大鼠肺纤维化的治疗作用及对转化生长因子表达的影响[J]. 中华结核和

呼吸杂志, 2006, 9(29): 636-637.

- [3] Luppi F, Cerri S, Beghe B, et al. Corticosteorid and immunomodulatory agents in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Res Pir Med, 2004, 98(11): 1035-1044.
- [4] Khalin N, Berezay O, Sporn M, et al. Macrophage production of transforming growth factor  $\beta_1$  and collagen synthesis in chronic pulmonary inflammation [J]. J Exp Med, 2005, 170(3): 723-737.
- [5] Denis M, Ghadirian E. Transforming growth factor- $\beta$  generated in the course of hypersensitivity pneumonitis: contribution to collagen sythesis[J]. Am J Respir Cell Biol, 2004, 7(2): 156-160.
- [6] Paul WE. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory-lymphokine[J]. Blood, 2001, 77(9): 1859-1870.
- [7] Eickelberg O, Pansky A, Koehler E, et al. Molecular mechanisms of TGF(beta) antagonism by interferon- $\gamma$  and cycloporine A in lung fibrosis[J]. Chest, 2001, 15(3): 797-806.
- [8] 丁旭春, 王新华, 王真. 复方甘草甜素治疗博来霉素致肺纤维化大鼠的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(27): 4237-4238.
- [9] Kato T, Horie N, Hashimoto K, et al. Bimodal effect of glycyrrhizin on macrophage nitric oxide and prostaglandin E2 production[J]. In Vivo, 2008, 22(5): 583-586.
- [10] Javaprakasam B, Duddaqa S, Wang R, et al. Licorice flavonoids inhibit evtaxin-1 secretion by human fetal lung fibroblasts in vitro[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(3): 820-825.

(收稿日期: 2010-01-25 修回日期: 2010-07-01)

(上接第 121 页)

#### 参考文献:

- [1] 仲召阳, 刘宏鸣, 王东, 等. Bayes 法前列腺癌多肿瘤标志物诊断模式建立及临床意义[J]. 重庆医学, 2010, 39(5): 527-529, 532.
- [2] Alvarez SM, Gómez NN, Scardapane L, et al. Morphological changes and oxidative stress in rat prostate exposed to a non-carcinogenic dose of cadmium [J]. Toxicology Letters, 2004, 153(3): 365-376.
- [3] Zeini Jahromi E, Biadri A, Assadi Y, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry Ultra trace determination of cadmium in water samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 585(2): 305-311.
- [4] 罗子国, 许舸, 李堆信. 镉对大鼠前列腺基细胞损伤及锌保护的超微结构观察[J]. 重庆医学, 2000, 29(5): 407-408.
- [5] Shi L, Xue DF, Xu HG, et al. Determination of Pb, Cd, Hg

and As in three sorts of chinese traditional medicine treating tumor by ICP-MS [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2007, 27(5): 1036-1037.

- [6] 王洛夫, 张尧, 兰卫华, 等. RNA 干扰沉默雄激素受体基因对前列腺癌细胞生长的抑制作用研究[J]. 重庆医学, 2010, 39(1): 28-30.
- [7] 刘崇华, 黄理纳, 余奕东. 微波消解电感耦合等离子体发射光谱法测定塑料中铅和镉[J]. 分析实验室, 2005, 24(2): 66-69.
- [8] Vilar-Farinas M, Barciela-Garcia J, García-Martin S, et al. Direct determination of cadmium in orujo spirit samples by electrothermal atomic absorption spectrometry: comparative study of different chemical modifiers [J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 591(2): 231-238.
- [9] 马旭, 丁永生, 庞艳华, 等. 石墨炉原子吸收加基体改进剂测定海水中镉[J]. 分析化学, 2005, 33(3): 343-346.

(收稿日期: 2009-01-28 修回日期: 2010-06-28)