

中华人民共和国卫生行业标准

血清中硒的氢化物发生-原子  
吸收光谱测定方法

WS/T 109—1999

Serum—Determination of selenium—Hydride  
generation atomic absorption spectrometric method

1 范围

本标准规定了氢化物发生-原子吸收光谱法测定血清中硒浓度的方法。  
本标准适用于正常人和接触硒的作业人员血清中硒浓度的测定。

2 原理

血清经硝酸-高氯酸消解后,在酸性介质中,用硼氢化钠将硒还原成硒化氢,由载气将生成的硒化氢导入加热的石英原子吸收管中原子化,根据硒的基态原子对其特征谱线的吸收程度而定量。

3 仪器

- 3.1 玻璃和塑料器皿均用 20%(V/V)硝酸溶液浸泡过夜,用蒸馏水、去离子水分别冲洗干净,避尘晾干备用。
- 3.2 具塞塑料管:2 mL。
- 3.3 离心机:4 000 r/min。
- 3.4 称量瓶,φ25 mm×40 mm。
- 3.5 具塞比色管:10 mL。
- 3.6 电热板:0.6~1.8 kW。
- 3.7 VA-90 氢化物发生装置。
- 3.8 硒空心阴极灯。
- 3.9 原子吸收分光光度计;仪器操作条件见表 1。

表 1 仪器操作条件

项 目	条 件	项 目	条 件
波 长	196.0 nm	空气流量	8.0 L/min
狭 缝	0.3 nm	乙炔流量	1.9 L/min
灯电流	8 mA	燃烧器高度	18 mm
氩气流量	0.8 L/min	测量方式	峰高

4 试剂

实验用水为去离子水。

- 4.1 硝酸:ρ<sub>20</sub>=1.42 g/mL,优级纯。
- 4.2 高氯酸:ρ<sub>20</sub>=1.67 g/mL,优级纯。

- 4.3 盐酸： $\rho_{20}=1.19\text{ g/mL}$ ，优级纯。
- 4.4 硝酸溶液：3% (V/V)。
- 4.5 乙醇溶液：75% (V/V)。
- 4.6 盐酸溶液：6% (V/V)。
- 4.7 混合消解液：硝酸-高氯酸，1+1。
- 4.8 硼氢化钠碱性溶液 (6 g/L)：称取 0.6 g 硼氢化钠 (优级纯) 和 0.5 g 氢氧化钠 (分析纯)，用水溶解并稀释至 100 mL。
- 4.9 空白血样：取小牛血清或若干个正常人混合血清充分混匀待用。
- 4.10 硒标准溶液：标准值为  $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。临用前用盐酸溶液稀释成 0, 40.0, 80.0, 160.0, 240.0, 320.0  $\mu\text{g/L}$  的标准应用液。

## 5 采样、运输和保存

用硝酸溶液和乙醇溶液依次清洗皮肤后，抽取静脉血 2 mL 于具塞塑料管中。放置 1 h 后，于 2 000 r/min 离心 10 min；小心取出全部血清，并置于具塞塑料管中；于 4℃ 条件下至少可以保存五周。

## 6 分析步骤

### 6.1 样品处理

将血清充分混匀后，取 0.5 mL 于小称量瓶中，加 1 mL 混合消解液轻轻混匀；将称量瓶倾斜加盖置于  $180\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$  电热板上加热消解，待消解样为无色透明且冒白烟时立即取下放冷。用 1 mL 去离子水小心冲洗瓶盖于称量瓶中，再加 0.6 mL 浓盐酸，充分混匀后，敞口于电热板上继续加热 10 min，将六价硒还原为四价硒，取下放冷。将残液转移至具塞比色管中，用加温的水少量多次洗涤称量瓶，洗涤液并入比色管中，而后用水定容至刻度，混匀供测定。同时取 0.5 mL 水如上操作制备试剂空白。

### 6.2 标准曲线的绘制

取 6 个具塞比色管，按表 2 配制标准管。

表 2 硒标准管的配制

管 号	0	1	2	3	4	5
不同浓度的硒标准应用液, mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
空白血样, mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
硒的浓度, $\mu\text{g/L}$	0	40.0	80.0	160.0	240.0	320.0

将仪器调节到最佳状态，分别将 4.0 mL 标准系列溶液加入氢化物发生器的反应瓶中，盖上瓶塞，通载气几秒钟赶走反应瓶中的空气后停气。定量注入 2.0 mL 硼氢化钠碱性溶液，滞留 2 s 通气，依次测定各管的吸光度，每个浓度测定 3 次，将标准管的吸光度减去空白血样的吸光度，求平均值，以吸光度均值为纵坐标，硒的浓度 ( $\mu\text{g/L}$ ) 为横坐标，绘制标准曲线。

### 6.3 测定

在标准曲线测定的同样条件下，测定样品和试剂空白的吸光度，以测得的样品的吸光度减去试剂空白的吸光度后，由标准曲线上查得血清硒的浓度。

## 7 说明

7.1 本法的最低检出浓度为  $1.55\text{ }\mu\text{g/L}$ ；特征浓度为  $2.93\text{ }\mu\text{g/L}$ ；线性范围为  $0\sim 320.0\text{ }\mu\text{g/L}$ ；相对标准偏差为 3.3%~5.4% (血清硒浓度为  $60.0\sim 200.0\text{ }\mu\text{g/L}$ ,  $n=6$ )；加标回收率为 99.2%~103.4% (血清硒本底浓度为  $52.65\sim 129.53\text{ }\mu\text{g/L}$ ，加标浓度为  $40.0\sim 160.0\text{ }\mu\text{g/L}$ ,  $n=6$ )；用本法测定 GB W09 131 牛血清标准物质中硒的浓度，相对偏差为 -3.4%。

- 7.2 使用不同型号的氢化物发生装置和原子吸收分光光度计时,可参考本法所选择的仪器操作参数,要在仪器最佳状态下进行测定。
- 7.3 在血清的消解过程中,将六价硒还原为四价硒时,加入浓盐酸的量要满足测定的要求,样品溶液最终的盐酸浓度约为6%(V/V)。
- 7.4 血清用硝酸-高氯酸在 $180^{\circ}\text{C}\pm 10^{\circ}\text{C}$ 消解时,注意观察消解终点,样品消解完全的程度以白烟与透明液面脱离为佳。为了防止在消解过程中硒的挥发损失,切忌将样品蒸干。
- 7.5 根据氢化物发生原子吸收光谱法的要求,在血清的测定过程中必须采用基体匹配的标准曲线,样品和标准的处理过程要保持一致,以减少误差。
- 7.6 新鲜血清于 $4^{\circ}\text{C}$ 条件下至少可保存五周。
- 7.7 当血清硒浓度为 $113.2\ \mu\text{g/L}$ 时, $0.028\ \text{mg/L Ni}^{2+}$ 、 $16.0\ \text{mg/L Fe}^{3+}$ 、 $0.1\ \text{mg/L As}^{3+}$ 及 $4.5\ \text{mg/L Cu}^{2+}$ 等金属离子对测定均不产生干扰。