

R
008.8
2212

私立中山醫學院醫學研究所

碩士論文

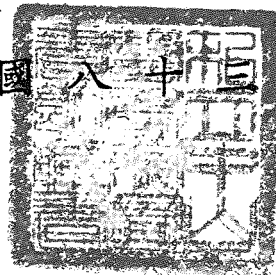
指導教授： 陳文貴 教授

生物檢體中微量元素偵測技術之研究

THE TECHNIQUES OF TRACE ELEMENTS DETERMINATION
IN BIOLOGICAL SPECIMENS

研究生： R8001104 巖正傑

中華民國八十年七月



中山醫學院圖書館



C028109

本論文為中山醫學院授予理學碩士學位之
必備條件之一，經中山醫學院醫學研究所碩
士論文考試委員會審查合格及口試通過。

口試委員

清華大學原子科學研究所教授

謝文

東海大學化學系教授

黃承文

中山醫學院醫事技術學系副教授

劉文忠

中山醫學院公共衛生學系副教授

郭榮義

中山醫學院醫學研究所教授
(論文指導教授)

陳文貴

中華民國八十三年七月

摘 要

微量元素在生化、臨床醫學、營養、毒物、環境及職業衛生等方面上都扮演相當重要的角色。人們也觀察到在許多不同的病理條件下，人體內的必需、非必需或有害微量元素的濃度亦會產生變化。如果能夠對生物檢體中微量元素的含量予以監控，即能減輕或避免因元素濃度的變化而影響健康。

本研究主要目的即在探討如何以樣品前處理技術包括冷凍乾燥、微波酸消化及直接稀釋，並配合儀器中子活化及原子吸收光譜儀來有效地偵測生物樣品中微量元素之含量。研究分成三個主要部份，第一部份是探討以中子活化分析技術來定量人體血清中多種元素的含量。第二部份則是以微波酸消化技術分解包括人類血清、尿液及動物器官，並配合原子吸收光譜儀偵測元素濃度。第三部份為利用原子吸收光譜儀定量人類全血稀釋樣品中鉛元素濃度。

本研究利用標準參考物質，包括牛肝粉末 (SRM1577a)，牛血清 (SRM1598)，人類血清標準品及全血標準品來驗證實驗的準確性及精密度。實驗結果發現，本研究建立之分析流程用於生物檢體中微量元素之偵測應能獲得相當精確之結果。

Abstract

It is now well recognized that trace elements play a vital role in biochemical, clinical, nutritional, toxicological, environmental, and occupational health problems. Changes in the concentration of essential, non-essential, and harmful elements in human body observed in a variety of pathological condition.

The present study is aimed to develop analytical techniques for trace elements by sample pretreatment which are included freezing dries, microwave acid digestion, and direct dilution and determination of the elements by instrument neutron activation analysis (INAA) and atomic absorption spectrometer (AAS). Three sections of experiment are comprised in this study. In the first section, the concentration of trace elements in freeze-dried human serum are determined by INAA. In the second section, the methods of trace metal measurement in biological specimens which are including human serum, human urine, and rat organ by AAS are developed. Microwave acid digestion technique is adopted for decomposition of specimens in this experiment. The analytical method of lead determination in diluted human whole blood by AAS is investigated in the final section of this work.

Standard Reference Materials bovine liver (SRM 1577a), bovine serum (SRM1598), "Second-Generation" Biological Reference Material human serum, seronorm™ trace elements whole blood II, and Lyphochek^(R) whole blood control are analyzed to verify the accuracy and precision of this study. From the experimental results, the analytical methods investigated in this study are efficient techniques for determination of trace elements in biological specimens.

誌 謝

學生於民國 80 年 9 月至 83 年 6 月在母校醫學研究所
修讀碩士學位期間，承蒙恩師陳文貴教授之辛勤指導。無論在
知識的傳授、研究精神的啓發與待人處事之教導上皆獲益良多
，僅在此表達個人最誠摯的謝意。

本論文得以順利完成，要特別感謝清華大學原子科學研究
所鍾堅所長、楊末雄教授、王竹方教授、藍蔭仁先生、衛元耀
先生及陳順隆先生在實驗設計及方法應用上之指導與建議。同
時，對於清華大學原子科學發展中心反應器組及同位素組諸位
先生、女士於實驗期間在儀器設備使用上所給予之協助，使研
究工作得以推展，謹致謝忱。

最後，感謝母校能夠提供此一進修之機會，使個人得以在
良好的研究環境下完成學業，特此誌謝。

目 錄

中文摘要.....	I
英文摘要.....	II
誌 謝.....	IV
目 錄.....	V
表 目 錄.....	VI
圖 目 錄.....	VIII
緒 論.....	1
壹、利用中子活化分析技術探討人體血清中多種元素之含量... 5	
貳、以微波酸消化技術配合原子吸收光譜儀偵測生物檢體中 微量元素含量.....	14
參、以樣品直接直接稀釋法配合原子吸收光譜儀偵測全血中 鉛含量.....	28
結 論.....	40
參考文獻.....	42

表 目 錄

表 1：微量元素流程中系統性誤差發生之頻率.....	50
表 2：中子活化分析之儀器偵測極限.....	51
表 3：樣品冷凍乾燥前處理流程.....	52
表 4：Irradiation and counting details of human serum using the THOR facility at the NIHU.....	53
表 5：以中子活化分析技術偵測牛肝標準品元素含量.....	54
表 6：健康成人血清中多種元素含量.....	55
表 7：血清、尿液樣品微波消化條件.....	56
表 8：動物器官樣品微波消化條件.....	57
表 9：樣品微波消化前處理流程.....	58
表10：原子吸收光譜儀之儀器偵測極限.....	59
表11：原子吸收光譜儀之儀器偵測條件(前處理：微波消化)....	60
表12：火鋸式原子吸收光譜儀之儀器偵測偵測銅、鐵元素之 設定條件.....	61
表13：以微波消化技術配合原子吸收光譜儀之儀器偵測添加 (Spike) 試驗樣品之回收率.....	62

表14：Quality Control Using Standard Reference	
Materials in The Work.....	63
表15：標準參考物質 SRM 1577a 牛肝標準品中銅與鐵之分析...	64
表16：血清尿液檢體中金屬元素含量.....	65
表17：老鼠心臟器官中 Cu 與 Fe 之濃度.....	66
表18：老鼠肺臟器官中 Cu 與 Fe 之濃度.....	67
表19：老鼠肝臟器官中 Cu 與 Fe 之濃度.....	68
表20：老鼠腎臟器官中 Cu 與 Fe 之濃度.....	69
表21：老鼠脾臟器官中 Cu 與 Fe 之濃度.....	70
表22：臺灣不同地區之總微粒及鉛微粒濃度.....	71
表23：血中鉛濃度與人體之反應.....	72
表24：原子吸收光譜儀鉛元素偵測條件.....	73
表25：以不同稀釋液處理之全血標準品中鉛元素偵測濃度數值..	74
表26：以不同稀釋液處理之全血標準品儀器偵測之背景平均值..	75
表27：盲樣測試樣品鉛元素濃度.....	76

圖 目 錄

圖 1：必需微量元素之劑量與效應關係圖.....	77
圖 2：有害微量元素的生物學反應示意圖.....	78
圖 3：一般分析法與活化分析法之差異.....	79
圖 4：雙重密閉式微波酸消化系統.....	80
圖 5：石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鐵元素之檢量線.....	81
圖 6：石墨爐式原子吸收光譜儀偵測銅元素之檢量線.....	82
圖 7：石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鉛元素之檢量線.....	83
圖 8：石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鋅元素之檢量線.....	84
圖 9：火鋸式原子吸收光譜儀偵測鐵元素之檢量線.....	85
圖10：火鋸式原子吸收光譜儀偵測銅元素之檢量線.....	86
圖11：血紅素原 (Heme) 合成途徑	87
圖12：石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鉛元素之檢量線.....	88

緒 論

微量元素與人體健康的關係，近年來日益受到人們的重視，例如環境污染造成的水俣病(Hg)，痛痛病(Cd)，職業曝露造成的氣喘、肺病或肝腎毒性 (Cu, Fe, Cd, V, Cr, Pb 等)，食品容器含 Zn, Sn, Cu 過量而引起胃腸症狀(1,2) 等，皆是因元素曝露過量而致病。另外，體內許多重要生理功能或生物分子亦需元素的參與，才能維持正常運作，例如血紅蛋白(Fe)，腸磷酸酶(Zn)，甲狀腺素(I₂)等(1,3)。人們已瞭解到微量元素中約有 30 種對人體是必需元素，還有一些是非必需元素，另一些則為有害元素。隨著研究工作的深入，人們也瞭解到因為攝入量的問題，使得許多元素不能嚴格劃歸成必需、非必需或有害元素，除了需考慮該元素存在濃度的高低之外，還需考慮該元素所存在的化學型態，例如三價鉻是人體所必需的微量元素，六價鉻卻是毒性元素。即使是人體必需的元素，在人體內亦有一定的濃度容許範圍，濃度過低將無法維持正常的生理機能，濃度過高則又可能引起中毒現象(4)，圖 1 為 Frieden (5) 所提出微量元素的劑量與效應間的關係圖，只有微量元素在體內的分佈的分佈濃度在適量的範圍內，才能確保生理機能之正常運轉。而有害元素的生物學反應如圖 2 所示(5)，第一階段中有害污染物增加，但尚未引發生物效應。第二階段因負荷量增加，而使生理反應受到影響，但非常輕微且是可逆的。第三階段開始影響生理機能，且隨著曝露量的增加而更趨嚴重，最後導致死亡。

非必需元素或毒性元素，會經由環境，食物之污染而慢慢累積在人體中，當累積至毒性劑量時，即會損及健康 (4-10)

。尤其是近年來由於科技與工業的快速發展，人口大量集中都市，已造成相當程度的環境污染問題。特別是重金屬元素，因其具有不被生物分解的特性，在環境中經由植物及動物等食物鏈的濃縮與累積，導致對人體健康的危害。因此，對生物檢體中必需微量元素濃度予以檢測，即能預防因攝取不足或累積過多而造成組織器官功能之不健全，而損害健康。至於偵測非必需元素或毒性元素之含量，不僅能防止因環境、食物污染而導致攝入量過高之危險，並且能提供環境改善之參考。

生物樣品中微量元素的分析方法 (11)，其主要步驟包括①樣品的收集—包括樣品的採集，儲存、運送等。如何採得一個具代表性的樣品同時避免在儲存或運送過程中因容器表面的吸附、溶離，或因不當的包裝而導致污染或漏失，皆是影響分析結果可靠性的重要因素。②樣品的前處理—為配合偵測儀器之特性，如中子活化分析以測定固體樣品較不易造成類似水溶液樣品在中子照射下產生輻射裂解，可能產生大量氣體，造成照射容器之破裂；而原子吸收光譜儀或感應耦合電漿原子發散光譜儀，則以測定水溶液狀樣品為主。此外，為降低生物或環境樣品因複雜的基質而造成分析判讀上之困擾，常以直接稀釋或消化分解等方式，將複雜樣品予以稀釋或分解以降低背景干擾，方便儀器之偵測。③儀器測定—許多元素在生物樣品中之分佈數量極微 (12,13) 為獲得樣品中微量元素精密及準確的分析結果，高靈敏偵測儀器的使用是必需的。目前常被使用有關元素分析之儀器有原子吸收光譜儀，感應耦合電漿原子發散光譜儀和中子活化分析等。本研究採用原子吸收光譜儀及中子活化分析來偵測生物樣品中微量元素之含量。

在進行微量元素的分析過程中，無可避免的常會面臨實際

樣品基質的複雜性以及待測元素含量較低之困擾，並進而容易導致不可靠的分析結果。基本上在分析過程中所涉及的每一操作步驟——包括採樣、分裝、樣品前處理、儀器測定及數據整理等，都可能導致誤差。探討其原因，可能因為化學試劑、容器及實驗室空氣不乾淨而污染樣品，導致數據偏高之後果；或者因為易發揮之元素漏失及容器表面的吸附等，造成數據偏低之影響。此外亦可能由於產生新的化學變化，儀器信號干擾，不正確的儀器校正等，而產生或多或少之誤差 (11)。在微量元素分析流程中系統性誤差發生之頻率列於表 1。本研究為獲致可靠的分析結果，除了積極探尋在分析過程中可能造成誤差的因素，並設法避免或降低其影響程度，如使用高純度之試藥及水，無塵操作台之應用，以標準參考物質來驗證分析流程及參加實驗室間比試等。

本研究採集之生物樣品包括人類血液、血清、尿液及老鼠的器官包括心、肺、肝、腎、脾等。分別依照不同檢體之特性，儀器測定之需求及臨床檢驗應用之便利為研究重點，建立一套結合中子活化分析及原子吸收光譜儀兩種偵測器，並配合不同之樣品前處理流程的生物檢體微量元素偵測技術。依據上述之研究目標，本實驗分成三個部份，第一部分探討以中子活化分析技術應用於人體血清中多種元素之定量工作。由於中子活化分析具有同時多元素偵測之特點，為微量元素濃度測定之重要技術，如 Behne (14) 用於分析定量人類血清中長半衰期核種之元素，Liu (15) 測定飲食中少量及微量元素之濃度及毛髮、膽結石 (16) 之元素含量檢測。本研究為配合臨床檢驗與基礎醫學實驗之時效需求，將中子活化分析技術應用於活化照射後，產生短半衰期核種之元素定量工作。第二部份是將微波酸消化技術，應用於不同生物檢體的前處理工作，並以原子

吸收光譜儀定量其元素含量。微波酸消化樣品前處理技術乃是近十餘年來所發展之前處理技術 (17)，具有高效率、快速及無污染之優點 (18)，已逐漸受到重視與採用。McCarthy (19) 在比較微波消化法、溼式灰化法 (Wet Ashing) 及乾式灰化法 (Dry Ashing) 在處理樣品的過程及元素分析結果之差異後發現，微波酸消化處理的耗時較少，卻能獲致精密度與準確度均不亞於傳統消化技術之結果。在生物檢體的實際應用方面，由於商品化之微波消化瓶的容積較大，Nicholson (20) 在消化瓶內加裝一小容量的容器，應用牛肝粉末標準品 (SRM 1577a) 的元素分析。藍啓仁先生 (11) 則是將三個小容量之鐵氟龍瓶，放入微波消化瓶中，組成雙重密閉式消化瓶，應用於人類血清樣品之消化分解。本研究即採用雙重密閉式消化瓶，以微波加熱方式，分解包括人類血清、尿液及動物器官樣品。第三部份為利用直接稀釋樣品的前處理方法，並結合原子吸收光譜儀來偵測全血樣品中鉛元素之濃度。本研究之重點在於如何能有效地增加樣品溶液之均一性，並降低高鹽類溶液之儀器偵測背景干擾，以提昇臨床血中鉛檢驗之精密度與準確度。所有的分析流程皆以標準參考物質來驗證實驗結果之可靠性，並應用於實際樣品或測試盲樣之分析工作。

壹 利用中子活化分析技術探討人體血清

中多種元素之含量

一、前言

活化分析法為兼具有極微量分析及非破壞多元素同時分析兩方面能力的元素分析法。一般的分析技術為利用原子中電子排列的差異所造成化學性質的不同，而觀測這些電子狀態變化時之各種現象。相對於此，活化分析則如圖 3 所示，強制使存在於原子中心的原子核產生變化，觀測其所發生的現象(16)。活化分析造成原子核強制變化，使其轉變為放射性同位素。這些放射性同位素以一定的半衰期衰變，同時放出特定能量的輻射。因此，依據這些輻射的偵檢，即能推斷發生核反應之前的原子核種類(何種元素)及原子核的數目(元素含有量)。

中子活化分析法為一高靈敏度的分析技術，表 2 列出其偵測極限範圍(21)。其分析過程主要可分為下列三個基本步驟。一照射樣品之製備，並置放於核反應器中照射。樣品間物理性質(如形狀，大小和均勻程度)與化學性質(如組成成分)的一致性必須加以注意，以避免造成對分析結果之影響。二為活化照射時間長度的選擇，由於各放射性核種各有其特定的半衰期，因此，調整適當的中子照射時間及配合活化後樣品的冷卻時間，即能精確地計數待測元素核種之含量，並降低其他核種造成背景干擾問題。三為核種分析，目前一般多採用高解析純鍺偵檢器，配合多頻脈分析儀來計數

核種放出之伽瑪能譜，並以電腦程式協助分析結果之判讀與記錄。核種分析時須注意分析樣品與比較標準樣品的形狀及大小要一致，同時在偵檢器前測定位置也要相同。在調整測定位置時要避免在高計數率下測定使多頻脈分析儀的無感時間(dead time)增加，應盡可能在較低計數率下測定，維持無感時間的比例在 10% 以下 (16)。

中子活化分析一般可分為儀器中子活化分析法 (Instrumental neutron activation analysis, INAA) 及放射化學中子活化分析法(Radiochemical neutron activation analysis, RNAA) 兩種方法之特性敘述如下：

1. 儀器中子活化分析法 (INAA) 的特色是樣品照射後不經任何化學處理，而有直接以偵檢儀器作伽瑪能譜的測定，由儀器所顯示的特定能譜峰 (Energy peak) 進行放射性強度量測並配合下式求出待測元素的含量(16,22)。

$$D_x = N_x \sigma \phi (1 - e^{-\lambda x t_i}) e^{-\lambda x t_d} \quad (1)$$

D_x : 表示X活化同位素核種靜置 t_d 時間後的放射性強度 (Bq)

N_x : 表示原來存在 X 穩定同位素核種的數目

σ : 中子吸收截面積 (cm^2)

ϕ : 中子通量 ($\text{n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

t_i : 中子照射時間 (sec)

t_d : 活化照射後靜置時間 (sec)

λ_x : X 活化同位素核種衰減常數 (sec^{-1})

此種由放射性強度的量測即可直接推求含量的方法稱為絕對分析法(11)。另外，尚有利用標準樣品與實際樣品在相同條

件下進行中子照射及放射性強度量測，將兩者之放射性強度加以比較，即可計算出樣品中待測成份的濃度(23)。

$$W_x = \frac{A_x}{A_s} \cdot W_s \quad (2)$$

A_x : 實際樣品中待測成份元素的放射性強度 (Bq)

A_s : 標準樣品中待測成份元素的放射性強度 (Bq)

W_s : 標準樣品中待測成份元素的已知濃度 ($\mu\text{g/g}$)

W_x : 實際樣品中待測成份元素的濃度 ($\mu\text{g/g}$)

2. 放射化學中子活化分析法 (RNAA)。環境或生物樣品的組成一般均較複雜，若將照射後樣品直接量測伽瑪能譜，可能會因能譜間的干擾及高背景值的影響而導致部份核種分析上的困難。欲避免此一困難之最有效的方法即是以化學分離技術，除去干擾因素。通常這些化學分離前處理技術可應用於樣品活化照射前或照射後，但就環境輻射污染防治觀點，在樣品活化照射後再行化學分離處理，雖能有效避免樣品遭受外界汙染，卻因分離過程中產生之放射性廢棄物，增加處理廢棄物之負擔。若在樣品活化放射前即先將干擾物質分離處理，因處理樣品的時間增加受外界汙染導入之可能亦隨之增加，需要有潔淨的實驗環境、良好的人員訓練及嚴謹的微量分析實驗技術，方能克服汙染問題，並降低誤差發生的因素(11,16)。

本研究基於避免汙染導入，樣品特性及分析之時效性考量，選擇儀器中子活化分析技術來探討人體血清中多種元素之含量。同時，配合中子活化分析之樣品以固體形態為最理想之需求，將血清樣品以冷凍乾燥成粉末形態供元素分析用

。同時以 NIST 標準參考物質 SRM 1577a 牛肝標準品作為驗證分析流程及血清樣品元素濃度換算之依據。

二、血清中多種元素測定

2.1 儀器設備

1. 清華大學開放水池式反應器(THOR, 中子通率： 2×10^{12} n.sec⁻¹.cm⁻²)
2. 純鍺半導體偵檢器及多頻脈伽瑪能譜分析儀〔HP Ge detector and Canberra Series 35 Plus MCA〕
3. 水質純化裝置(Millipore Q⁵⁰ 純水製造機及 Heraeus DESTAMAT 石英玻璃製二次蒸餾裝置)
4. 冷凍乾凍機(Freezed-dryer, LABCONCO)
5. 無塵工作檯(BIO-HAZARD SAFETY HOOD, Class 100)
6. 超音波洗淨器(ULTRASONIK NEY 300)
7. 離心機 (CENTRIFUGE HITACHI)
8. 乾燥箱(Dryer, TOYO Living ED-100)

2.2 藥品及試劑

1. 清洗器皿用硝酸溶液，為 E.Merck 或 R.D.H 公司製造之分析級試藥稀釋一倍配製。
2. 標準參考物質採用 NIST 之 SRM 1577a 牛肝標準品作為與實際樣品相對比較，以計算待測元素濃度外，並可驗證實驗流程與分析技術。

2.3 器材清洗

實驗所需器材包括試管，離心管，Pipet Tips，燒杯等，在使用前皆需浸泡於1 倍稀釋之硝酸溶液至少一天，聚乙烯袋則浸泡於 2N 硝酸溶液二天。取出後以二次蒸餾水浸泡，經由超音波洗淨器振盪清洗，或者經由 15% 硝酸溶液熱蒸汽迴流沖洗後，直接以二次蒸餾水清洗，於無塵操作台內晾乾備用。

2.4 樣品收集

本研究之人體血清樣品的來源有二，一為在本院附設醫院體檢部門，篩選之健康成年人。二為本院學生之醫療服務隊，自南投縣山區村落作體檢收集之健康成年人。採樣年齡自 18-65 歲，但以 18-30 歲之年齡分佈佔大部份，男女性別分佈則為 5.9 比 4.1。

為了避免採樣時有外界污染因素導入，造成分析誤差。不僅對支援採樣之工作人員說明防制污染之重要性，另外亦提供統一規格，低金屬污染之真空採血管採集樣品。血液採集後，靜置約 2 小時，放入離心機以 3000 rpm 的速度離心 10 分鐘。分離血清樣品至酸洗淨之聚丙烯 (P.P.) 試管中，於 -70°C 下冰凍保存待元素分析定量使用。

2.5 樣品製備

利用中子活化分析技術來探討血清檢體元素含量時，為避免因液體樣品經輻射照射後發生輻射裂解，可能產生大量

氣體，造成照射容器的破裂。因此，本研究將液態之血清樣品予以冷凍乾燥處理成固態粉末，作為中子活化分析之樣品形態。

1. 血清樣品—取 0.3-0.5 毫升血清，置入酸洗淨之聚丙烯試管中，冷凍乾燥約 16 小時後，移入乾燥箱內，待乾燥後之樣品粉末回溫。將樣品以酸洗淨之聚乙烯小袋包裝，封口並稱重後，保存於乾燥箱內待中子活化分析。
2. 標準樣品—稱取 NIST 標準參考物質 SRM 1577a 牛肝粉末約 100 毫克，以酸洗淨之聚乙烯小袋包裝，封口後，保存於乾燥箱內，待中子活化分析。
3. 空白樣品—稱重約 50 毫克酸洗淨之聚乙烯小袋當空白樣品，置入另一較大之聚乙烯小袋，封口後，保存於乾燥箱內，待中子活化分析。
4. 校正中子通率用樣品—稱取約 50 毫克之鎳金屬粉末，以酸洗淨之聚乙烯小袋包裝，貯放於乾淨之燒杯內，待中子活化時供中子通率校正用。

樣品處理流程請參見表 3，同時為避免樣品在包裝後之保存期間受到污染，所有的樣品皆另以一較大型之聚乙烯袋包裝封口後，置入乾燥箱內保存(15)。

2.6 血清元素組成分析



將依前述以聚乙烯小袋包裝處理之血清樣品，標準參考物質及空白樣品，分別和校正照射中子通率之以聚乙烯小袋包裝的鎳金屬一同置入照射管中，利用氣送管裝置，把照射管送入清華大學開放水池式核反應器之中子照射位置(中子通率約為 $2.0 \times 10^{12} \text{ n} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$)。照射時間為 5 分鐘，樣品經氣送管送出反應器後，冷卻(Cooling)時間為 2 分鐘。將照射活化後樣品在距離 HP Ge 偵檢器 10 公分位置，計算其核種衰變所輻射出之伽瑪射線並配合 Canberra Series 35 Plus 多頻脈分析儀及 Micro SAMPO 80 軟體分析伽瑪射線能譜，並換算為各元素核種之放射性強度。表 4 列出各偵測核種伽瑪射線能量，半衰期及計數時間。標準參考物質 SRM 1577a 牛肝標準品經中子活化照射後，依表 4 所列偵測條件，計量其放射核種強度，並換算成原始元素含量，表 5 列出本研究偵測牛肝標準品所得之數據。人類血清冷凍乾燥樣品，亦依其前述操作方法，偵測其元素含量。測得之元素濃度及國外相關報告(26- 30)之數值整理於表 6。

2.7 結果與討論

近年來，中子活化配合高解析能力之伽瑪能譜儀已經成為生物檢體中多元素同時偵測之重要分析方法 (24)。利用核反應造成放射性同位素(放射性核種)後會自然衰變，而釋出輻射。因各核種放出之輻射種類及能量具有相當高的特異性，即可藉由輻射的度量而對樣品元素組成作定性與定量之分析。

本研究希望將儀器中子活化分析技術，應用在人體血清

樣品中多種元素之偵測，並藉以收集國人血清中多種元素分佈濃度範圍之資料。為獲得可靠之數據資料，並避免外界污染而導入誤差，利用標準參考物質 SRM 1577a 牛肝標準品來驗證分析技術與流程之可信度，並藉以換算實際樣品之元素濃度，比較標準品與樣品之放射強度來計算樣品中待測成份的濃度(23)。為確保分析品質，首先以清華大學原子科學研究所已建立之 SRM 1577a 牛肝標準品經相同流程活化照射後之各元素放射性核種強度為標準，比較本研究測得之標準品放射性核種強度，得到待測成份的濃度，列於表 5，數據顯示，本研究測得之元素濃度與標準品之真實濃度都相當接近（真實濃度±10% 範圍），除了鈾元素有稍高（ $0.118 \pm 0.022 \mu\text{g/g}$ vs. $0.099 \pm 0.008 \mu\text{g/g}$ ）及錳元素有偏低（ $8.7 \pm 0.8 \mu\text{g/g}$ vs. $9.9 \pm 0.8 \mu\text{g/g}$ ）之趨勢，不過尚在品管樣品偵測數據之可接受範圍內（真實濃度± 20% 範圍）(31)。

本研究在實際從事中子活化分析時，因鑒於偵測長半衰期之放射性核種時，需經約 30 小時之活化照射及冷卻 (Cooling) 2-4 週後才能定量元素，在時效上並不適用於臨床檢體分析，故僅將中子活化分析技術應用於會產生短半衰期核種之元素，如鈉、鎂、氯、鈣、溴、錳等之定量。

表 6 列出血清樣品經中子活化照射後，偵測所得各元素之含量及國外相關報告 (13,26-30) 數值之比較。其中較值得注意的是鎂元素的平均濃度稍高於國外參考值(26)，原因可能包括偵測技術之差異，地域與生活方式之不同而導致。鎂是體內許多酵素之輔因子，可增進新陳代謝，此外，鎂、鈉與氯在體內可調節血中酸鹼值的平衡，氯亦為胃酸之重要

成分 (32)。在人體中含量最多的礦物質是鈣，其功用包括骨骼牙齒的形成、血液凝血機制之維持、血液酸鹼值的調節、肌肉收縮及神經傳導等。由分析數據發現，血清中鈣、氯及鈉之平均濃度皆與參考值相近(26,28,30)。溴在體內所擔任之角色至今仍存疑 (29)，相關之研究報告並不多見，但鹵族元素中，氟、氯、碘皆為必需微量元素，故溴應有其特定生理功能，但需作進一步的探討。溴在血清中之含量是 $51.26 \pm 19.14 \mu\text{g/g dry weight}$ ，亦與參考數值相近(29)。鋁及錳兩個金屬元素，在實驗所得數值皆較參考值(13,27) 偏高甚多，可能與基質干擾和儀器偵測樣品之靈敏度有關(16)。在分析 $^{27}\text{Al}(n,r)^{28}\text{Al}$ 時，可能的干擾反應包括 $^{28}\text{Si}(n,p)^{28}\text{Al}$ 及 $^{31}\text{P}(n,\alpha)^{28}\text{Al}$ 皆會產生 ^{28}Al 放射性核種。而分析 $^{55}\text{Mn}(n,r)^{56}\text{Mn}$ 時，可能受到 $^{56}\text{Fe}(n,p)^{56}\text{Mn}$ 及 $^{59}\text{Co}(n,\alpha)^{56}\text{Mn}$ 所產生之 ^{56}Mn 放射性核種干擾，使得偵測所得數據增加。

實驗結果發現，以冷凍乾燥處理之血清樣品直接用中子活化分析技術來定量短半衰期核種之元素濃度，在樣品處理及儀器操作流程都相當簡易，大部份元素偵測所得數值之準確度亦頗高，但是因為血清樣品基質複雜，部份元素濃度亦較低，造成元素的偵測因此受到干擾。綜合前述，在分析樣品處理方式、時效與準確性的考量下，中子活化分析技術應用在大部份產生短半衰期元素的定量方面，仍是相當適合基礎醫學研究採用。

貳 以微波酸消化技術配合原子吸收光譜 儀偵測生物檢體中微量元素含量

一、前言

由於樣品基質可能會在樣品溶液的傳送過程及光譜的測定時造成干擾，或者樣品形態為固體，必須先行轉變為液態樣品，因此，利用原子吸收光譜儀偵測生物樣品中金屬元素含量時，往往需要先將樣品予以消化分解(20)。一般而言，樣品消化分解的過程乃是決定整個分析流程長短及是否能有效地偵測樣品中金屬元素真實濃度之限制因素 (19)。一個理想的消化方法應能滿足下列幾種需求(28)。①在消化過程中導入的系統性誤差應儘可能降到最低，以確保最後分析結果的可靠性。②需能適用於多種不同基質樣品的消化處理。③消化反應機制，應儘可能是明確與可了解的。④消化處理方法應具備有容易操作的特性。⑤樣品消化所花費的時間應儘可能縮短。

對於生物及有機樣品的消化，最常用的有乾式消化法和溼式消化法。乾式消化法常用方式是將生物樣品放入高溫灰化爐中，使其高溫下燃燒，將有機物質氧化而使複雜基質分解，以便利後續之偵測工作。但在高溫灰化時，樣品曝露於大氣中，因此容易受到污染，而造成分析上之誤差。此外，對於易揮發之元素如汞、砷、硒等，亦不易有效地保留。至於溼式消化法，一般均使用具有強氧化力的酸液或混酸溶液與樣品基質混合加熱，達到分解樣品基質之目的。溼式消化

法有開放式及密閉式之區別，開放式消化可能會因外界空氣懸浮粒子掉入反應容器內而導入污染，同時，高揮發性之元素也不易保留，因此，目前消化技術已逐漸朝向密閉式發展。密閉式消化法除了能避免前述之污染導入及高揮發性元素漏失之問題外，更具有提昇反應效率，縮短時間之優點。但亦有其操作之注意事項，如添加藥劑之純度是否能避免污染物導入而提高空白值，或者因消化過程中，強酸將容器表面污染物質溶出，而導致污染等。因此，採用高純度之試劑及適當的容器清洗流程在降低空白值，提昇分析可靠性是相當重要。密閉式消化法在實際應用時主要有高壓消化分解法及微波酸消化法，其中高壓消化分解法之發展已相當成熟，亦廣為許多實驗室採用(11)。而微波消化法因微波加熱具有高效率、快速及無污染之優點(18)，已逐漸受到重視，本研究即在探討生物樣品如血清、尿液及組織器官之微波消化技術並建立一套完整之分析流程。微波加熱最早大約在 18 年前即應用於酸消化技術(17)，但是直到最近幾年，因商品化之微波消化系統已逐漸被實驗室所採用，相關研究論文亦陸續被發表 (17,34-40)。在微波消化的過程中，樣品及強酸溶液被密封在微波可穿透之容器內，即能產生高於強酸沸點之加熱溫度。因此，不僅可以明顯地縮短消化所需時間，同時，對大量檢體的製備處理亦更便利 (20,36,38-39)。此外，密閉式的消化方法也有如前所述的低污染，少漏失之優點。目前微波酸消化設備的安全，迅速及可程式控制的優點已凌駕傳統的溼式消化或乾式消化技術(19)。微波酸消化技術，雖然有相當多的優點，但操作時亦有其極需注意之處。由於利用密閉容器加熱以提昇分解效率與防制污染，避免漏失有相當之正面意義，但伴隨而來的瓶內壓力增加之問題，亦是影響實驗安全與實驗成果之重要問題，必需加以監控

(17)。為因應此項需求，本研究採用之微波消化系統，具有壓力監測系統與安全洩壓裝置。

此外，目前商品化之微波消化用標準容器的體積較大（內容積約100 毫升），對於一般小體積之生物檢體在應用上頗為不便，容易產生污染或漏失之現象。本研究參考文獻(11,20) 所設計之雙重密閉容器裝置予以修改，將生物檢體及強酸溶液放入一個內容積約為 7 毫升之鐵氟龍小瓶，每二個小瓶相疊放入微波消化用之標準容器內，組成一雙層式消化容器，不但較適合小體積生物檢體之消化分解，亦能同時作較多樣品（24 個樣品）之微波消化處理，其裝置如圖 4 所示，供生物檢體微波酸消化分解用。

微波酸消化所使用之消化溶液有硝酸，硫酸、過氯酸、過氧化氫、氫氟酸及鹽酸等(11,41)，其中氫氟酸的腐蝕力相當強，一般實驗較避免使用，硫酸在常壓下沸點即達 338 °C 高於鐵氟龍熔點(約 300°C)，使用時須注意勿使溫度過高而損壞消化瓶。鹽酸一般很少單獨使用，且適用於溶解碳酸鹽、磷酸鹽等。硝酸則為有機化合物及金屬之強氧化劑，適用於碳氫化合物、蛋白質、脂肪等之消化，通常在使用硝酸消化食品或類似有機物質後，可加入過氧化氫作後續消化步驟。但過氧化氫試劑純度較差，且無較簡便之純化方法，對微量元素分析時容易導入污染。而過氯酸不僅有高純度之試劑，且能擔任類似過氧化氫之後續消化步驟之工作。因此，本研究即嘗試組合硝酸及過氯酸來消化標準參考物質，以評估其適用性，並對實際樣品包括血清、尿液及動物器官消化分解，偵測其金屬元素含量。

二、生物檢體中多元素分析

2.1 儀器設備

1. 原子吸收光譜儀 (PERKIN-ELMER 5100PC 及 3300PC)
2. 碳爐式電熱原子化裝置 (THGA Graphite Furnace PERKIN-ELMER, 5100ZL Zeeman Furnace Module)
3. 微波酸消化樣品製備系統 (Microwave Sample Preparation System, CEM Corp. MDS-2000 SERIES)
4. 水質純化裝置 (Millipore Q⁵⁰ 純水製造機及 Heraeus DESTAMAT 石英玻璃製二次蒸餾裝置)
5. 無塵工作檯 (BIO-HAZARD SAFETY HOOD Class 100)
6. 超音波洗淨器 (ULTRASONIK NEY 300)
7. 離心機 (CENTRIFUGE HITACHI)
8. 高效能液相層析儀 (HPLC, PERKIN-ELMER 250 SERIES)

2.2 藥品及試劑

1. 清洗器皿用硝酸溶液為 E. MERCK 或 R.D.H. 公司製造之分析級試藥稀釋一倍配製。
2. 微波酸消化所需硝酸，過氯酸為 E. MERCK 公司製造之超純級試藥。
3. 原子吸收光譜儀建立檢量線所需元素標準液均使用 E. MERCK 公司製造的儲備標準液稀釋而成。
4. 標準參考物質採用 NIST 之 SRM 1577a 牛肝標準品 SRM

1598 牛血清標準品及 CRM "Second-Generation" BRM 人血清標準品作為驗證實驗流程與分析技術使用。

5. 實驗所需清洗及配製試藥用水，均以二次去離子水經石英玻璃製二次蒸餾裝置純化處理。

2.3 器材清洗

本研究使用之實驗器皿包括玻璃定量瓶，Pipette Tips，小微波消化瓶，原子吸收光譜儀用樣品杯等，皆須以 1:1 稀釋之硝酸溶液浸泡至少一天，取出後，以二次蒸餾水浸泡，經由超音波洗淨器振盪清洗或者經由 15% 硝酸溶液熱蒸汽迴流沖洗後，直接以二次蒸餾水清洗，於無塵操作台內晾乾備用。

2.4 樣品收集

1. 血清及尿液：

人體血清及尿液樣品之來源為本院年齡 19-25 歲之年輕學生健康檢查時，篩選健康者之體液予以收集。為了避免採樣時有外界污染導入，造成分析誤差。不僅對健康檢查時之工作人員說明防制污染之重要性，另外，亦提供統一規格，低金屬污染之真空採血管及集尿瓶收集樣品。血液收集後靜置約 2 小時，放入離心機以 3000 rpm 的速度離心 10 分鐘，分離血清樣品至酸洗淨之聚丙烯 (P.P.) 試管中，於 -70°C 下冰凍保存，待元素分析定量使用。尿液樣品亦同樣依前述離心處理方式，分離上清液，

冰凍保存，待元素分析使用。

2. 動物器官：

隨機選取 16 週大之健康雄鼠 SHR 品系 12 隻及 Wistar 品系 16 隻，老鼠餵食環境為 12 小時光照 12 小時黑暗週期，飼料及飲水充份給予。利用乙醚深度麻醉致死後，分成四組，每組有 3 隻 SHR 品系及 4 隻 Wistar 品系之雄鼠。分別在老鼠犧牲後第 0, 4, 16 及 24 小時取出臟器，以二次蒸餾水沖洗後，以酸洗淨之樣品瓶分裝，冰凍於 -70°C 下保存，待元素分析定量使用。

2.5 樣品微波酸消化

微波酸消化技術應用於生物檢體之前處理，首先須就混酸溶液之選擇，微波功率之調整，加熱時間之長短等條件加以設定，以提高樣品的分解效率及確保實驗的再現性與可靠度。

1. 微波酸液之選擇—如前所述，一般採用之密閉式之消化用酸液以硝酸及過氯酸較常使用，同時亦有報告 (11) 指出以 0.5 毫升之硝酸加 0.2 毫升過氯酸之混酸消化液，用於微波消化血清樣品，結果相當良好。因此，本研究即採用此混酸組合，應用於包括血清、尿液、動物器官之消化分解工作。
2. 微波酸消化系統加熱條件之選擇—微波加熱混酸之速率相當快，而且在密閉容器內，因升溫而伴隨壓力之增加亦相

當迅速，爲了避免因瓶內液體蒸汽壓及氧化反應產生 CO_2 ， NO_2 大量增加而造成消化容器之變形，甚至破壞而危及實驗室安全，本研究將微波功率由低逐漸分階段增加，同時，延長加熱時間，以確保安全及樣品能完全消化分解。

利用實際樣品如標準參考物質，血清、尿液及動物器官，依下述之樣品製備方法處理後，置入微波消化系統，測試較佳之消化條件。表 7 至表 8 爲應用至生物檢體之微波消化條件，所有流程都約在 21-22 分鐘，即能得到澄清之樣品消化液。

3. 樣品製備

①血清尿液樣品—取 1 毫升血清或尿液樣品，放入酸洗淨之鐵氟龍小瓶，再加 0.5 毫升硝酸及 0.2 毫升過氯酸後，栓緊瓶蓋。將 2 個鐵氟龍小瓶加入標準之微波消化瓶內，同時在每一批 24 個樣品中至少含 2 個空白樣品及 2 個標準參考樣品，以供分析品質管制。樣品裝入雙層密閉式消化瓶後，置入微波消化系統，依表 7 所列程式進行消化分解。

②動物器官樣品—稱取 0.2 克溼重之老鼠器官樣品，放入酸洗淨之鐵氟龍小瓶，再加 0.5 毫升硝酸及 0.2 毫升過氯酸後，栓緊瓶蓋。如前所述，置入微波消化系統，依表 8 所列條件進行微波消化。

③標準參考物質—爲確保實驗之準確度，採用 NIST SRM 1577a 牛肝，SRM 1598 牛血清及 BRM 人類血清標準

品來驗證取樣約 50-100 毫克，牛血清標準品每次取樣約 0.5-1.0 毫升，人類血清標準品則取樣約 100 毫克。將標準品分別與 0.5 毫升硝酸及 0.2 毫升過氯酸混合，放入鐵氟龍小瓶，分別在每一批微波消化的 24 個樣品中，放入 2 個標準品，依個別之微波消化條件進行分解。

④空白樣品—在每批同時消化之 24 個樣品中，放入 2 個含 1 毫升二次蒸餾水加入 0.5 毫升硝酸及 0.2 毫升過氯酸之混合液組合之空白樣品，供每批樣品扣除空白值使用。

⑤添加(Spike)試驗用樣品—為確立微波消化前處理技術對生物檢體元素分析的實用性與可靠度，利用添加試驗作回收率的確認。首先，選取 30 個血清樣品，各取 0.5 毫升均勻混合後，作為測試樣品。將測試樣品依上述方法取樣 0.5 毫升，再分別添加混合元素標準溶液 0.5 毫升，包含銅($1500 \mu\text{g/L}$)，Fe ($2000 \mu\text{g/L}$)，Zn($500 \mu\text{g/L}$) 和 Pb($10 \mu\text{g/L}$)，加入混酸消化液後，進行微波酸消化。

為了避免外界污染的導入，以致發生嚴重之分析誤差，在微波消化處理時，除使用超純級之試藥外，所有的樣品分裝工作，皆在無塵操作檯上進行，以確保實驗之準確性。表 9 列出所有樣品在微波消化時之處理流程，經處理後之樣品溶液，皆利用定量瓶，以二次蒸餾水定容後，置於 4°C 冷藏保存，待元素分析用。

2.6 生物樣品元素濃度分析

原子吸收光譜儀是目前公認對重金屬測定最靈敏的一種儀器，其中，石墨爐式原子吸收光譜儀對許多元素其偵測極限均可達到 0.1 ppb 程度(表 10)，而火鋸式原子吸收光譜儀對金屬偵測靈敏度雖然較差，但其分析能力之迅速、準確，對位於其偵測範圍內之金屬元素濃度的定量工作，仍是相當合適的選擇(43)。本研究採用石墨爐式原子吸收光譜儀 (5100PC) 及火鋸式原子吸收光譜儀 (3300 PC) 來定量經微波酸消化後之生物檢體溶液。

1. 儀器設定條件之探討—石墨爐式原子吸收光譜儀其石墨爐的加熱程序包括五項基本步驟，第一為乾燥 I (Dry 1) 階段，第二為乾燥 II (Dry 2) 階段，功能在於將待測樣品溶液中的溶劑予以蒸發去除，第一階段溫度較低，約為 110 °C，第二階段為 130 °C，可達到較佳之乾燥效果，避免在後續灰化或原子化過程中，發生溶劑濺射情形，影響分析數據之正確。第三為灰化 (Pyrolysis) 階段，溫度約 300-1000 °C，目的在使一些容易揮發之樣品基質在原子化前去除，以降低原子化時之背景干擾，同時，也可使複雜之有機基質得以在較高之溫度加熱，分解為較小之化合物，讓金屬元素較易在原子化步驟時，迅速蒸發形成單一原子團蒸汽。第四為原子化 (Atomization)，溫度約在 1500-2400 °C，各偵測元素在其較佳之原子化溫度時，迅速蒸發，變成許多單一原子構成之原子團蒸汽充滿於光徑之中，計量該原子團蒸汽吸收光線之強度，即可推算其原始濃度。第五為清除 (Clean) 階段，以較高溫度，約在 2450 至 2650 °C 左

右，將石墨管內之物質完全燃燒蒸發，以降低空白讀數，進行下次元素偵測。表 11 列出生物檢體經微波酸消化處理後，以石墨爐式原子吸收光譜儀偵測元素銅、鐵、鋅、鉛之儀器設定條件。

火鋸式原子吸收光譜儀經由氣體燃料混合燃燒所產生之高溫提供待測元素原子化時所需溫度。在火鋸式原子化的燃燒系統中，首先是樣品溶液被吸取，經霧化器分散而進入混合室與燃燒及氧化用氣體混合後，帶入到燃燒頭，產生燃燒和原子化 (43)。動物器官檢體經微波酸消化後，以火鋸式原子吸收光譜儀偵測元素銅，鐵之儀器設定條件，列於表 12。

2. 元素分析

① 檢量線之設立

將元素儲備標準溶液依各元素在原子吸收光譜儀之最佳偵測濃度範圍，以超純級硝酸及二次蒸餾水製備含 0.2% 硝酸之元素標準溶液，同時配製 0.2 % 硝酸水溶液為空白標準液，供設立儀器檢量線使用。圖 5—圖 10 為各元素標準液在石墨爐式及火鋸式原子吸收光譜儀的偵測值以Sigma Plot™ 4.1 版 (Jandel Scientific) 電腦繪圖軟體所繪製之檢量線。所有元素標準液皆為新鮮配製，並儲備於酸洗淨之容器中。

② 添加(Spike) 試驗樣品分析

消化液依表 10 所列各元素在原子吸收光譜儀偵測時的稀釋倍數以二次蒸餾水稀釋，測其金屬元素含量，並換算回收率，實驗數據列於表 13。

③標準參考物質樣品分析

樣品消化液，依設定之稀釋倍數（表 9）或依樣品原始元素濃度含量略加調整稀釋倍數後，以石墨爐式原子吸收光譜儀，偵測元素含量，結果列於表 14。而 SRM 1577a 之牛肝標準品之消化液，亦直接以火燄式原子吸收光譜儀偵測元素含量，結果列於表 15。

④體液樣品分析

血清及尿液樣品消化液，其中血清樣品依表 9 稀釋方法稀釋，而尿液樣品定容 10 毫升後即直接以石墨爐式原子吸收光譜儀偵測元素含量，同時比較國外相關報告之數據，如表 16 所示。

⑤動物器官檢體分析

動物器官檢體消化液，於定容 10 毫升後，直接以火燄式原子吸收光譜儀定量銅與鐵之含量。表 17-21 列出實驗結果。

2.7 結果與討論

本研究以微波消化前處理技術配合原子吸收光譜儀來偵測生物樣品中金屬元素濃度，除了以高純度之試劑及純水，輔以酸洗淨之容器來避免外來污染的導入。同時，更以添加 (Spike) 試驗樣品及 NIST 的標準參考物質來作品質控制的工作。表 13 列出以混合血清樣品，添加 4 種不同濃度之金屬溶液後，依實驗流程 (表 9 及表 11)，偵測其元素濃度並計算回收率。數據整理發現 4 種金屬元素之回收率在 96-108% 間，證明全部分析流程中，並未有明顯之污染或漏失因素介入 (11,31,44)。以標準參考物質依前述流程 (表9-12) 分別處理後，偵測其元素含量。依據表 14 及 15 的數據顯示，由微波酸消化前處理技術配合原子吸收光譜儀的分析流程應可獲致相當正確之結果。

本研究收集人體血清及尿液樣品，依前面所述流程 (表 9 及 11)，分別予以偵測元素含量，並與國外相關報告之數值作比較 (表 16)。鐵是血紅蛋白及肌紅蛋白之必須組成元素，關係到人體體液之攜氧能力，乃是維持生命功能所必需之微量元素(45)。實驗所得血清鐵濃度略高於參考值，可能與部份檢體中血球破裂而造成細胞內高濃度的鐵污染至血清有關。銅與鋅都是許多酵素的組成元素之一，為酵素發揮活性必需之因子(32,46,47)。但是銅若在體內蓄積如環境污染或遺傳疾病如 Wilson's disease 亦會造成相當大之毒性作用 (46)。研究數據顯示血清中銅濃度和參考值一致，鋅則略低，但差異不大。鉛是高毒性之微量元素，外界環境中的空氣、食物、水等皆可能是鉛進入人體之途徑 (32,48)鉛中毒已成為工業曝露員工之相當重要的職業病。目前有關鉛之參考數據多是全血中鉛

含量，而紅血球鉛濃度平均約為血清中的 16 倍(26, 48)。
根據劉紹興 (49) 等人於民國 81、82 年間對國人血中鉛濃度調查所得數據平均值為 $8.55 \pm 5.67 \mu\text{g/dL}$ 即為約 $85.50 \pm 56.70 \mu\text{g/L}$ ，而本研究分析血清鉛濃度約為 $10.90 \pm 6.50 \mu\text{g/L}$ ，依前述參考文獻 (26, 48) 換算成鉛濃度約為 $100.80 \pm 60.08 \mu\text{g/L}$ ，因兩組數據受個體差異影響皆相當明顯，致使兩者之間並無太大之差距。

尿液為人體主要之液體排泄物，許多毒物或其代謝後產物皆能由尿液排出。因此，尿液是偵測體內元素曝露之相當重要的指標，尤其在採樣上較血液方便，安全，適合於大規模之篩選。但是尿液樣品亦有其缺點，例如，飲水量與排汗量即會影響尿液中溶質濃度。因此本研究除依照前面所述樣品處理流程偵測元素濃度外，並以高效能液相層析儀定量尿液中肌酸酐的濃度，並以此濃度為基準，換算該樣品於每克肌酸酐中含有多少微克之銅或鐵元素結果列於表 16。

將微波酸消化分解技術應用於動物器官是本研究另一個探討的目標，同時並比較在兩種品系的老鼠犧牲後，於不同時間內採樣所得樣品，其元素濃度是否會因器官自溶或品系不同而有差異。由表 17-21 中，本研究偵測所得數據顯示有下列之意義：

- ①由於本次實驗主要在將微波消化技術應用於實際動物器官樣品上，故每組老鼠僅 3-4 隻，在個別差異的影響下，縮短了各組間的差異，並降低統計上的意義。

- ②雖然間隔不同時間採樣，但在兩種品系的老鼠器官如心臟、腎臟及脾臟，並未有顯著差異出現。顯示在與外界隔絕的環境下(體腔內)器官自溶對這些器官的銅與鐵之分佈並不會有太大之影響。
- ③由表 18 可以發現肺臟器官中銅與鐵的分佈，受到器官自溶的影響較顯著，器官本身自溶時，外界空氣中之粒子黏附於組織上，可能是造成濃度逐漸增高之因素，此外，血液的污染亦是可能原因之一。
- ④不同品系的老鼠在相同器官中元素濃度分佈有頗大之差異如肝臟及脾臟中鐵元素，腎臟中的鐵與銅元素等。這些相異處是否和 SHR 這種遺傳性高血壓品系老鼠之遺傳因子有關，尚待進一步探討。

由標準參考物質及添加 (Spike) 試驗樣品利用微波酸消化技術並配合原子吸收光譜儀定量元素濃度，所獲得之數據顯示此項實驗流程的可靠性相當高。本研究將之應用於實際樣品操作時發現，不僅在許多樣品皆能得到完全澄清之消化液，同時亦使偵測時的背景干擾降低，在儀器操作時，不必另外添加基質修飾劑或提高灰化處理之溫度(表 11-12)。因此，微波消化技術應用於生物檢體之前處理上，雖然器皿，樣品處理等耗時較長，但低背景值，高可靠性之分析結果應是相當重要且值得推廣之方法。

參 以樣品直接稀釋法配合原子吸收 光譜儀偵測全血中鉛含量

一、前言

鉛為藍灰色金屬元素，早在六千年前小亞細亞人及五千五百年前的埃及人，即已知道如何使用鉛。我國亦早知道用鉛，明朝李時珍在本草綱目中也提及鉛之藥效，另外，元朝朱丹溪在本草衍義補遺中亦述及鉛之毒性(50)，可見鉛早已在人類歷史上佔有相當重要之一頁。元素鉛或其合金，可用於鉛蓄電池、焊錫、鉛字、鉛板或鉛磚等，此外，鉛化合物亦常應用於白漆(矽酸鉛)，金屬表面防護漆（四氧化三鉛，俗稱鉛丹），殺虫劑(砷酸鉛)，媒染劑(醋酸鉛)，聚氯乙稀 (PVC) 之安定劑(硬脂酸鉛)，汽油抗震劑(四乙基鉛或四甲基鉛)等。由於鉛的用途廣泛，許多工業製程或日常用品皆為人體所容易接觸，因此，鉛對人體之危害也就不容忽視。

鉛大多是由呼吸道及腸胃道進入人體，成人呼吸道及腸胃道，鉛的吸收率分別約為 30% 及 10%，小兒胃腸道之鉛吸收率更佳，約可達 30-50%。鉛進入體內，分佈於血液，軟組織及骨骼內，其中 90% 分佈在骨骼中。其餘分布於血液、腎臟、肝、心及腦，其中腎臟之含量最多。鉛在血液及軟組織之半衰期約為 20 天，若進入骨骼，其半衰期則長達 20 年。另外，血中鉛 90% 存於紅血球 (RBC) 中(50,51)。一般正常成人在沒有特殊鉛暴露的情形下，每人每天由呼吸及腸胃道吸收的鉛約為 30-40 微克，而前人研究(52)指出，常人每日可由尿中排出鉛總量約為 250 微克

，因此，在正常情況下體內排泄系統應該足以排除每日吸收之鉛含量。但是，由於某些工業從業人員長期接觸到鉛或其化合物，極易因工作導致慢性蓄積或者因為操作不慎而導致急性中毒現象。這些鉛暴露危險行業包括鉛蓄電池工業、焊接業、鑄鉛銅工業、氫氣吹管工業、油漆及噴漆、氧化鉛作業、陶瓷工業、殺虫劑、除草劑工廠，PVC 塑膠業、紡織業、汽油業、鉛管工、拆船業等以及服食中藥等 (53-56)，皆是鉛中毒之高危險群。此外，由於工業發展、車輛廢氣而引發之環境污染問題，也使得部份都市的空氣品質惡化，空氣含鉛量也急速上升，據臺灣省環境衛生研究所於民國六十九年及七十年之報告 (表 22) 指出，臺北市鉛污染要比郊區嚴重許多(57)。由於工業的曝露，環境的污染，已使得生活在現代社會的人們都有鉛曝露的危機。

鉛對人體影響較大者包括神經系統、造血系統、腎臟及消化系統。其毒性作用有：

神經系統：在兒童多為鉛腦症(Lead encephalopathy) 在成人則多為周邊性神經病變 (Peripheral neuropathy) 臨床上初期為手足酸麻、無力、感覺異常。神經生理檢查，可發現肌纖震顫(Fibrillation)。末期為手垂症 (Drop hand)、足垂症 (Drop foot)。鉛對運動神經之毒性比感覺神經嚴重(55)。

造血系統：鉛對造血系統影響為阻止血紅素原的合成。圖 11 (49)為血紅素原的合成的途徑，其中鉛可以阻斷 1-4 處之酵素作用，使血紅素原減少，紅

血球機械性脆性增加，而有貧血，嗜鹼性斑點及網織紅血球增加等症狀。

腎臟：腎毒性可分為兩類——第一為可逆性腎小管障礙 (Reversible renal tubular dysfunction)，常見於兒童及鉛中毒初期。第二為不可逆性間質腎病變 (Irreversible interstitial nephropathy)，可見於慢性鉛中毒病人，因為鉛沉積於近端腎小管，使得腎小管細胞變性，進而因腎小球缺血及腎小管變性萎縮，而有腎間纖維化 (Interstitial fibrosis) 最後造成腎臟萎縮 (Renal atrophy) (52,58)。

消化系統：前趨症狀有食慾不振、嘔心、腹部不適及間歇性便秘或下痢。嚴重時在牙齦與牙齒相接處會有藍紫色點狀線，俗稱鉛線 (Lead lines) 及腹部劇烈疼痛之鉛絞痛 (Lead colic) (59)。

其他：中毒嚴重者可能引起不孕，流產及新生兒之死亡等。

由前面敘述可以發現，鉛對人體健康所造成之影響相當深遠，尤其是經常接觸鉛之工廠從業員工，更是加強防制鉛中毒之首要目標，我國勞委會即規定，鉛曝露工廠工人必需每年作定期健康檢查，而血中鉛濃度即是主要之檢查項目，衛生署更建立血中鉛濃度通報系統，規定血中鉛濃度高於 $40 \mu\text{g/dL}$ (男性) 或 $30 \mu\text{g/dL}$ (女性) 需通報有關單位，並予以監控。表 23 為 1977 年世界衛生組織 (WHO) 公佈

之血中鉛濃度與人體之反應 (52)。由表上數據可知血中鉛濃度高低與病情發展及影響有相當大之關係，而且，因個人體質不同亦有不同之反應症狀。因此如何能以簡便但精確地方法將血中鉛濃度偵測出來，不僅有助於維護勞工健康，更對醫師的臨床診斷與治療有所助益。

目前在臨床檢驗偵測血中鉛多以原子吸收光譜儀配合檢體稀釋方法進行，方法雖然簡便，但由於血液樣品基質複雜，又非一均勻溶液體系，在取樣，偵測時皆容易發生誤差，導致分析數據偏移。本研究雖然在前面已述及利用微波酸消化技術可以有效地降低背景干擾，樣品溶液也呈現均勻水樣，對儀器偵測時，可減低誤差發生之機率。但在臨床診斷上，因限於人力，時間及成本考量，此方法並不適用於初步的篩選檢查，而較適合於需進一步探討病因與臨床研究使用。因此，本研究乃根據目前臨床檢驗慣用之流程，在稀釋液，基質修飾劑及儀器偵測條件加以修改，以期符合實際應用時，迅速、簡便而又精確之要求。

二、血中鉛濃度分析

2.1 儀器設備

1. 原子吸收光譜儀(PERKIN-ELMER 5100PC)
2. 碳爐式電熱原子化裝置(THGA Graphite Furnace PERKIN-ELMER, 5100ZL, Zeeman Furnace Module)
3. 水質純化裝置(Millipore Q⁵⁰ 純水製造機及 Heraeus DESTAMAT 石英玻璃製二次蒸餾裝置)

4. 無塵工作檯(BIO-HAZARD SAFETY HOOD Class 100)
5. 超音波洗淨器 (ULTRASONIC NEY300)
6. 試管振盪器(Mixer)

2.2 藥品及試劑

1. 清洗器皿用硝酸溶液為 E.MERCK 或 R.D.H. 公司製造之分析級試藥，稀釋一倍配製。
2. 樣品稀釋液所需 Triton X-100 為 E.MERCK 公司製造之 G.C. 級試藥，硝酸為 E.MERCK 公司超純級試藥。
3. 基質修飾劑包括磷酸二氫胺、硝酸鎂為 Inorganic Ventures 公司製造之光譜分析級試劑。
4. 原子吸收光譜儀建立檢量線所需元素標準液使用 E.Merck 公司製造的鉛儲備標準液稀釋而成。
5. 全血標準品採用 Seronorm™之 Level II 樣品及 Lyphochek^(R) Level I-III 樣品，作為驗證實驗流程與分析技術使用。
6. 實驗所需清洗及配製試藥用水，均以二次去離子水經石英玻璃製二次蒸餾裝置純化處理。
7. 盲樣測試樣品由臺北榮民總醫院職業病防治中心於 83 年 4 月及 5 月寄發各實驗室，以評估血中鉛測定之正確性。

2.3 器材清洗

本研究使用之實驗器皿包括玻璃定量瓶，Pipette Tips，1.5 毫升微量離心管，原子吸收光譜儀用樣品杯等，皆需以 1:1 稀釋之硝酸溶液浸泡至少一天，取出後以二次蒸餾水浸泡，經由超音波洗淨器振盪清洗，或者經由 15% 硝酸溶液熱蒸汽迴流沖洗後，直接以二次蒸餾水清洗，於無塵操作檯內晾乾備用。

2.4 樣品收集

研究用全血樣品購自廠商製造之全血標準參考品及臺北榮民總醫院職業病防治中心所寄發之盲樣測試樣品。

2.5 樣品製備

①. 樣品稀釋液之配製

相關文獻 (60-68) 記載，一般用於全血中鉛濃度偵測時，稀釋液的組成分有 Triton X-100、硝酸、磷酸二氫胺、胺水、純水等，目的在於使血球溶解，樣品溶液變成均勻狀態，同時降低因高鹽類基質所導致之背景干擾。其中 Triton X-100 為界面活性劑，除了溶解細胞膜之功能外，尚能與許多生物大分子如蛋白質，核酸、脂肪等結合，增加其水溶性，使樣品基質能均勻化。尤其是血液中鉛大部份都結合於紅血球的胞膜、蛋白質(血紅素、小分子量蛋白)，或是血漿中的蛋白等 (60、61、69)，若能使這些生

物分子均勻散布於樣品溶液中，則可以降低儀器自動採樣吸管取樣時之誤差。為了避免鉛元素在樣品處理或儲存時吸附於管壁而降低偵測數值，可以加硝酸酸化稀釋液，以增加鉛的溶解度，減少管壁吸附效應。

此外，硝酸、磷酸二氫胺、胺水在水溶液中所解離出之硝酸根離子 (NO_3^-)、磷酸根離子 (PO_4^{3-})、胺根離子 (NH_4^+) 等，皆能夠有效地降低鹽類所造成之背景干擾 (61-63)。

本研究根據這些論文資料，選擇以 Triton X-100 及硝酸的水溶液為樣品稀釋液，磷酸根離子及胺根離子則由基質修飾劑提供。世界衛生組織 (WHO) 在 1980 的一份報告 (60) 及 Lagesson (61) 在 1979 的研究中所使用之稀釋液配方為 0.1% Triton X-100 溶於 10^{-3}M HNO_3 ，本研究嘗試應用於血液樣品之稀釋時發現會產生溶液不均勻，甚至有沈澱的現象，必需離心取上清液才能以儀器偵測鉛濃度。有研究報告 (67,68) 使用較高濃度的 Triton X-100 水溶液為稀釋液，懸浮效果較佳。而且以 Triton X-100 為 1% 的稀釋液配製樣品，不須離心，即可直接以儀器偵測。因此，本研究組合 1% Triton X-100 之配方與建立檢量線使用之 0.2% HNO_3 溶液為全血稀釋用液體，同時與先前之 0.1% Triton X-100 溶於 10^{-3}M HNO_3 的配方比較。

- (1) A 稀釋液—大約取 308 微升之超純級硝酸，及 1 克 Triton X-100 液體，溶於二次蒸餾水，並定容至 100 毫升，配製成濃度是 1% Triton X-100 溶

於 0.2% 硝酸的水溶液。

- (2) B 稀釋液—大約取 7 微升之超純級硝酸，及 0.1 克 Triton X-100 液體，溶於二次蒸餾水，並定容至 100 毫升，配製成濃度是 0.1 % Triton X-100 溶於 10^{-3} M 硝酸的水溶液。

② 基質修飾劑

如前所述，硝酸根離子(NO_3^-)，磷酸根離子(PO_4^{3-})及胺根離子(NH_4^+)可以降低全血基質中高鹽類之背景干擾(61-63)。另外，Welz(70)亦提到加硝酸鎂後，可適度地提高灰化時之溫度，能有效地降低背景干擾問題。因此，本研究採用磷酸二氫胺及硝酸鎂為偵測全血中鉛濃度之基質修飾劑，每次由自動採樣吸管取樣質量分別為 200 微克及 20 微克。

③ 血液樣品稀釋

研究使用之試樣為 Seronorm™ 及 Lyphochek^(R) 之全血標準品，皆是冷凍乾燥粉末，儲存於 4°C 備用。在取樣前，依瓶上標示，加入適量之二次蒸餾水予以溶解，輕輕搖晃，使溶液能均勻分佈，並注意避免使血樣碰觸封口之橡皮塞，減少污染之可能。待完全溶解後，混合均勻並分裝至酸洗淨之 2 毫升試管，於 -20°C 下保存、備用。

每次取樣前，自冰凍庫內取出標準試樣解凍，並

以試管振盪器使之混合均勻。取 100 微升之全血倒入 1.5 毫升之微量離心管中，加入 900 微升之 A 或者 B 稀釋液，每組樣品重複取樣 10 次。將試管蓋妥，並置放至少 60 分鐘，使 Triton X-100 能將胞膜溶解完全，在這段時間內，同時將試管振盪混合數次，使樣品溶液能均勻混合。

④ 空白樣品配製

取 100 微升之二次蒸餾水，倒入 1.5 毫升之微量離心管中，加入 900 微升之 A 或 B 稀釋液，將試管振盪混合數次後，使溶液能均勻混合。

⑤ 測試盲樣配製

將測試用盲樣，依瓶上標示，加入適量之二次蒸餾水溶解，如前述血液樣品之處理方式製備。取 100 微升之盲樣溶液倒入 1.5 毫升之微量離心管中，加入 900 微升之 A 稀釋液，每個樣品重複取樣 6 次。蓋妥試管，如前所述，置放 60 分鐘，同時振盪混合數次，使盲樣樣品溶液均勻混合。

2.6 血中鉛濃度分析

1. 儀器條件之設定

如前面第貳部份所述，石墨爐式原子吸收光譜儀之石墨爐加熱程序有五項基本步驟。其中灰化步驟對降低背景值干擾非常重要。由於血液中高鹽類基質容易造成

分析時之困擾，常須加入基質修飾劑，使高鹽類基質之揮發性增加，在灰化時較易去除。本研究採用磷酸二氫胺，硝酸鎂為修飾劑，且以硝酸為樣品溶液，配合較高之灰化溫度應能有效地降低背景干擾。此外，為使原子化步驟前延長石墨管內之恆溫帶，加快原子化加熱速率，以增加元素偵測之靈敏度及改善因基質複雜或升溫太慢而造成波形拖尾 (Peak tailing) 現象，本研究在原子化步驟前，加一冷卻 (Cool Down) 步驟。表 24 列出偵測全血中鉛濃度之儀器設定條件。

2. 元素分析

① 檢量線之設立

鉛元素儲備標準溶液以超純級硝酸及二次蒸餾水配製含 0.2% 硝酸之元素標準液，共配製 25 $\mu\text{g/L}$ ，37.5 $\mu\text{g/L}$ 及 50 $\mu\text{g/L}$ 三種標準溶液，另外泡製 0.2% 硝酸水溶液為空白標準液，供建立儀器檢量線使用。所有的元素標準液皆須於每次實驗前新鮮配製，並儲放於酸洗淨之容器內。圖 11 為鉛元素標準液在原子吸收光譜儀偵測值以 Sigma Plot™ 4.1 版 (Jandel Scientific) 軟體所繪製之檢量線。

② 血液樣品之分析

首先如前述方法建立檢量線，將稀釋完成之全血標準品，放置於自動取樣器上，由採樣吸管依序將基質修釋劑及血樣注入石墨管中，依表 24 所列條件，偵測血液樣品中鉛濃度。各標準血液樣品以不同稀釋

液處理得到之鉛濃度列於表 25。爲了進一步探討不同稀釋液對儀器偵測時所產生之背景值變化，在表 26 整理了不同血液樣品經兩種稀釋液分別處理後，由儀器所偵測到之背景平均值。

③測試盲樣之分析

以元素標準液先建立檢量線，再將已知濃度之全血標準品，注入石墨管測其鉛元素含量，檢視條件與數值是否合於標準數值範圍，確定儀器與分析流程正常。將測試盲樣，放置於自動取樣器上，依儀器設定條件分析鉛濃度，並向測試單位回報偵測數值。表 27 列出兩次盲樣比試之真實數值及本研究之測定值。

2.7 結果與討論

鉛元素已廣爲應用於工業製程或日常用品，容易爲人體所接觸，尤其是工業製程中產生之粉塵，廢氣及廢水，使得鉛中毒常見於相關工廠從業員工 (53-56)。此外，由於工廠廢棄物或汽機車廢氣排放，亦使得生活環境中的鉛濃度增加 (表 22)，一般人鉛曝露值亦隨之升高。本研究探討以血液樣品稀釋後，直接以石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鉛濃度，著重在於如何降低複雜基質對儀器偵測之干擾，嘗試以更簡便的流程獲得精確的數據。表 25 列出以兩種不同的稀釋液配方稀釋全血標準樣品後所測得之鉛濃度，可以明顯地發現 A 和 B 兩種稀釋液在血鉛濃度較低的樣品中，其偵測準確度有較大的差異。探討其原因包括下列數點：①較高濃度的 Triton X-100 (A 稀釋液) 較能夠避免樣品液內大分子聚集成乳糜粒，使溶液成不均

勻狀態 (71) 。②一般而言，金屬濃度愈低，被管壁吸附之機會愈高 (72) 。硝酸可以降低鉛元素被管壁吸附之機會 (71) ，③硝酸濃度較高能有效降低儀器偵測時的背景值 (71, 73) ，本研究在比較以 A、B 兩種稀釋液處理樣品之背景值時，亦發現有相同之現象(表 26) 。A 稀釋液處理之樣品的平均背景吸收值 (0.61-0.63) ，明顯低於 B 稀釋液處理之樣品 (0.95-1.07) ④基質修飾劑—磷酸二氫胺及硝酸鎂，如前所述，亦能有效地降低背景值 (61,63) 。

爲了進一步驗證本研究設立之分析流程的實用性與準確性，將臺北榮民總醫院職業病防治中心寄發之盲樣比試樣品依前述流程分析其鉛濃度，並回報測得數值。表 27 爲兩次盲樣之真實濃度與偵測值之比較，數值都相當接近，顯見全部實驗流程中並無重大污染或漏失的因素。因此，在偵測全血中鉛濃度時，血樣以 A 稀釋液 (1% Triton X-100 溶於 0.2% 硝酸水溶液) 稀釋 10 倍，用原子吸收光譜儀偵測鉛含量，應能獲得相當準確之實驗數據。

結 論

宇宙間一切物質，都是由化學元素所構成，化學元素在人體的生長、發育、健康、疾病、衰老或死亡之中具有十分重要的作用。生物體內的元素主要來自地殼的岩石層，元素及其化合物通過土壤、植物、動物及水進入人體，並透過新陳代謝的途徑與外界環境不斷地進行物質交換。另一來源為工廠廢棄物，如生產過程中製造的廢氣、廢水及廢棄物污染了水源、土壤、空氣，並經由飲水及食物進入人體(3)。

此外，許多微量元素在體內缺乏或不足時，都會引起細胞代謝或結構之變化，進而影響健康，或者有些元素對人體是有害的，當累積至一定濃度時，即會損傷健康。由此可見，微量元素對人體健康的影響實在不容忽視。若能對生物檢體如血清、尿液、血液及器官樣品中微量元素含量加以準確地監測，對防制因職業曝露，飲食不當或環境污染所導致的健康損害，將有莫大的助益。

在實驗的第一及第二部份，以中子活化分析技術配合原子吸收光譜儀，在不同的前處理技術的搭配下，偵測人類血清中多種微量元素之濃度，在時間因素的考量下，本研究將可產生短半衰期核種之元素以中子活化技術定量，而其他元素如銅、鐵、鋅、鉛等，則以微波酸消化處理樣品後，以原子吸收光譜儀定量元素濃度。同時，實驗的第二部份尚將其他的生物樣品檢體如尿液，動物器官如肝、腎、肺、心、脾等，分別探討如何以使用硝酸及過氧酸之微波酸消化技術處理後，以原子吸收光譜儀分析元素含量。血中鉛元素的偵測方式則是本研究

的第三個主題，在配合臨床檢驗的需求下，以界面活性劑 Triton X-100 及硝酸溶液直接稀釋樣品，在降低背景干擾及提高準確性的要求下，定量鉛元素之濃度。所有的實驗流程，皆用標準參考物質來確認其準確性與精密度，由研究數據結果(表 5,14,25) 發現，本研究之實驗皆可正確地偵測出生物檢體中元素含量。在健康成人血清與尿液之實際樣品的測試方面，研究所得數據則與國內外之相關報告結果相似(表 6,16)。而動物器官實際樣品的元素偵測方面，雖然並無國內外相關之完整報告數據可供比較(表 17-21)，仍可由牛肝標準品之偵測數值(表 15) 驗證流程之可信度。

本研究主要目標即在以高靈敏的元素偵測儀器設備如儀器中子活化及原子吸收光譜儀，配合依樣品特性，實驗儀器需求和精密度與準確度要求而設計之不同前處理流程包括冷凍乾燥，微波消化，直接稀釋等樣品處理方法嘗試建立一套完整之微量元素分析技術，並藉此累積不同樣品及不同分析流程之實驗經驗，為日後更進一步探討微量元素毒理機制之目標奠下基礎。

參 考 文 獻

1. 彭安、王文華：環境生物無機化學，淑馨出版社。中華民國 82 年 4 月。
2. L. Friberg, G. F. Nordberg, and V. B. Voule. Handbook on The Toxicology of Metals. Vol I. ELSEIVIER. 1986.
3. 胡漢升：微量元素與健康，環境醫學，科技圖書，中華民國 81 年 3 月
4. F. H. Nielsen, E.O. Uthus. In: Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements. E. Frieden, Ed. Plenum Press. New York. 1984; p319-340.
5. Frieden. In: Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements. E. Frieden, Ed., Plenum Press, New York, 1984.
6. P. Camer, W. C. Thomas and F. N. Gunnar. Routes of Exposure, Dose and Metabolism of Metals. Handbooks on the Toxicology of Metals. Vol I. Elsevier. 1986:p85-127.
7. M.N. Hughes. The Inorganic Chemistry of Biological Processes. John Wiley and Sons. 1972.
8. R.R. Greenberg, R. Zeisler, S. Malozowski. Analytical Chemistry. 1989;p220-228.
9. G.V. Iyengar. In: Biomedicl, Environmental Compositional and Methodological Aspects of Trace Element. Vol I. CRC Press:1989.

10. G.V. Iyengar, J.R.W. Woittiez. Process Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology. 1988;p267-269.
11. 藍啓仁：前處理技術配合光譜及活化分析探討環境及生物樣品中微量元素的分析研究。國立清華大學博士論文。中華民國 80 年 4 月。
12. J. Sarory, M.G. Savory and M.R. Wills. Trace Metal Analysis and Quality Assurance. Biological in Clinical Chemistry. Trace Element Research : Multidisciplinary Perspectives. 1991:p113-119.
13. K.S. Subramanian. Trace Elements in Biological Fluids. Biological Trace Elements Research : Multidisciplinary perspectives. 1991:p130-157.
14. D. Behne, H. Jurgensen, Determination of Trace Elements in Human Blood Serum and in The Standard Reference Material "Bovine Liver" by Instrumental Neutron Activation Analysis. J. Radioanal. Chem. 1978;42:447-453.
15. S.M. Liu, C. Chung, J.R. Chung, C.F. Wang and N.K. Aras. Daily Dietary Intake of Minor and Trace Elements by Upper Social Groups in Taiwan. J. of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles. 1991;150(2):397-415.
16. 趙旋爾：中子照射及分析活化。黎明書局中華民國 80 年 11 月。
17. H. M. Kingston , L.B. Jassie. Microwave Energy for Acid Decomposition at Elevated Temperature and Pressures Using Biological and Botanical Samples. Anal. Chem. 1986;58:2534-41.

- 18.H.M. Kingston and L.B. Jassie. In: Introduction to Microwave Sample Preparation. ACS. 1989.
- 19.H.T. McCarthy, P.C. Ellis. Comparison of Microwave Digestion with Conventional Wet Ashing and Dry Ashing Digestion for Analysis of Lead, Cadmium, Chromium, Copper, and Zinc in Shellfish by Flame Atomic Absorption Spectroscopy. J. Assoc. Anal. Chem. 1991;74(3):566-569.
- 20.J.R. P., Nicholson. Savory. J. et al Micro-Quantity Tissue Digestion for metal Measurement by Use of a Microwave Acid-Digestion Bomb. Clin. Chem. 1989;35(3):488-490.
- 21.G.R. Choppin, and J. Rydberg, In:Nuclear Chemistry: Theory and Applications. Pergamon Press. 1980.
- 22.C.H. Wang, D.L. Willis and W.D. Loveland. In: Radiotracer Methodology in the Biological, Environmental and Physical Sciences. Prentice-Hall, Inc. 1975.
- 23.G.R. Choppin and J.Rydberg. In:Nuclear Chemistry: Theory and Applications. Pergamon Press. 1980.
- 24.K. Heydron. Neutron Activation Analysis for Clinical Trace Element Research. Vols 1 and 2. CRC Press, Florida. 1984.
- 25.J. Versieck, L. Vanballenberghe, and A. D. Kesel. Centrifugation of a Second-Generation Biological Reference Material (Freezed-Dried Human Serum) for Trace Element Determinations. Analytical Chemica Acta. 1988;204:63-75.

26. B.L. Carson, H.V. Ellis III, J.L. McCann.
Toxicology and Biological Monitoring of Metals in Humans. 1986;p228.
27. P. Bratter, P. Schramel. In: Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology. 1980;p141.
28. 端木梁, 李建雄、翁郁嘉, 黃淑姿: 生物化學下冊, 藝軒出版社。中華民國 80 年 3 月。
29. R.E. Cuenca, W.J. Pories and J. Bray. Bromine Levels in Human Serum, Urine, Hair. Biological Trace Element Research. 1988;16:p151-154.
30. N. Hiromichi, K. Hisaaki, M. Hidakazu et al. Activation Analysis of Trace Elements in The Human Blood Serum of Some Specific Disease. Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biological. 1980;p365-380.
31. 陳順隆, 楊末雄: 血中鉛濃度測定技術與品質控制研討會。榮民總醫院。1944 年 5 月, 臺北。
32. 徐南麗: 營養學新論, 徐氏基金會, 中華民國 76 年 3 月。
33. G. Knapp, 微量分析化學研討會。國科會化學研究推動中心。1991。
34. T. Pinheiro, H. Duflou, and W. Maehaur Applicability of Microwave Acid Digestion to Sample Preparation of Biological Materials for Analysis by Particale-Induced X-ray Emission (PIXE). Biol. Trac. Elem. Res. 1990;27:589-597.

- 35.S. KoKot , G. King, H.R. Keller et al. Application of Chemometrics for the Selection of Microwave Digestion Procedures. Anal. Chim. Acta. 1992;286:81-94.
- 36.L.B. Fisher, Microwave Dissolution of Geological Material:Application to Isotope Dillution Analysis. Anal. Chem. 1986;58:261-263.
- 37.R.R. Raghunadha, A. Chatt. Microwave Acid digestion and Preconcentration Neutron Activation Analysis of Biologgical and Diet Samples for Iodine. Anal. Chem. 1991;63:1298-1303.
- 38.P. Aysola, P.W. Andeson, C.H. Langford Wet Ashin Biological Samples in a Microwave Oven Under Pressure Using Poly (tetrafluoroethylene) Vessels. Anal. Chem. 1987; 58:1852-1853.
- 39.H.M. Kingston, L.B. Jassie. Microwave Acid Sample Decomposition for Elemental Analysis. J. Res. Natt. Bur. Stand. 1988;93:269-274.
- 40.L. Gilman , W. Grooms. Safety Concerns Associated with Wet Ashing Samples under Pressure Heated by Microwave Energy. Anal. Chem. 1988; 60:1624-1625.
- 41.微波消化系統操作手冊。科安公司。
- 42.J.C. Van Coon, In:Selected Methods of Trace Metal Analysis. John Wiley & Sons. 1985.
- 43.原子吸收光譜儀的原理及應用。美商鉑金埃爾默公司。
- 44.C.R. Lan. Direct Determination of Cadmium in Sea-Water by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with Sodium Hydroxide as a Chemical Modifier. Analyt. 1993; 118:189-192.

45. C.G. Elinder, Iron. In: Handbook on the Toxicology of Metals. Vol II. Elsevier. 1986; p276-297.
46. I. Aaseth, T. Norst. Copper. In: Handbook on the Toxicology of Metals Vol II. Elsevier. 1986; p233-248.
47. C.G. Elinder. Zinc. In: Handbook on the Toxicology of Metals Vol II. Elsevier. 1986; p664-675.
48. K. Tsuchiya, Lead. In: Handbook on the Toxicology of Metals Vol II. Elsevier. 1986; p298-340.
49. 劉紹興：「1994 生物偵測技術研習會」論文集。1994 台南。
50. 葛謹、鐘孝民、王榮德：鉛中毒「鉛暨毒性化學物質曝露研習會」論文集。1993，臺北。
51. B.L. Carson, H.V. Ellis III, J.L. and McCann Lead In: Toxicology and Biological Monitoring of Metals in Humans. Lewis Publishers, Inc. 1986. 128-135.
52. R.A. Goyer Toxic Effect of Metal. In: Doull J, Klaassen CD, Amdur MO eds. Casarett and Doull's Toxicology. 3rd ed. New York: Macmillan 1986: 598-605.
53. 宋維村，陳快樂，陳容基，洪祖培，王秋華：成人鉛中毒腦症：二臨床報告。中華民國精神醫學會刊 1976; 2: 52-6.
54. 張常勝，王榮德，黃耀輝，葉文裕：某鉛蓄電池回收熔煉廠工人鉛中毒盛行率調查。疫情報導。臺灣醫界 1988 ; 31 : 544-6.

55. P.K. Yip, Y.C. Chang, J.D. Wang, S.Y. Tsai, J.S. Chen: A Small Outbreak of Lead Neuropathy in a Tile Factory. *J Formosan Med Assoc* 1988; 87:60-5.
56. 王松秀, 蔡嘉哲, 劉維哲, 施木青, 邱燕梅: 鉛作業勞工之鉛中毒。臺灣醫誌 1977;76:793.(abstract)
57. 鄭福田, 蔡俊鴻: 臺北市空氣中懸浮微粒含鉛量之探討。環境鉛污染研討會論文集, 衛生署環保局 BEP-73-05-008. 1984:23-33.
58. C.D. Hong, I.B. Hanenson, S. Lerner, P.B. Hammond, A.J. Pesce, V.E. Pollak: Occupational Exposure to lead: Effects on renal function. *Kidney Int* 1980; 18: 489-94.
59. M.R. Cullen, J.M. Robins, B. Eskenazi: Adult Inorganic Lead Intoxication: Presentation of 31 New Cases and a Review of Recent Advances in the Literature. *Medicine* 1983;62:221-47.
60. WHO Recommended Health-Based Limits in Occupational Exposure to Heavy Metals, Report of a WHO study Group, Tech. Rep. Ser. No. 647 WHO, Geneva, 1980.
61. V. Lagesson, and L. Andrasko, Direct determination of Pb and Cd in Whole Blood and Urine by Flameless AAS. *Clin. Chem.* 1979;25:1948.
62. P.A. Pleban, and K.H. Pearson, Determination of Pb in Whole Blood and Urine Using Zeeman Effect Flameless AAS. *Anal. Lett.* 1979:935.
63. E.J. Hinderberger, M.L. Kaiser, and S.R. Koilthohann, Furnace AAS of Biological Samples Using the L'vov Platform and Matrix Modification. *At Spectrosc.* 1981;2:1.

- 64.K.S. Subramanian, and J.S. Meranger, A Rapid Electrothermal AAS for Cd and Pb in Human Whole Blood. Clin. Chem. 1981; 27, 1966.
- 65.M. Stoepler, Automated Blood Lead Determinations by Electrothermal AAS. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1978; 16:58.
- 66.M. Stoepler, K. Brandt, and T.C. Rains, Contributions to Automated Trace Analysis.II. Rapid Method for the Determination for Pb in Whole Blood by Electrothermal AAS. Analyst. 1978;103, 714.
- 67.K.S. Subramanian, and J.S. Merange, A Rapid Electrothermal AAS for Cd and Pb in Human Whole Blood. Clin. Chem. 1981;27:1866.
- 68.李瑤玲，劉嘉斌：鉛蓄電池工廠作業員血中鉛濃度與血液常規檢查之關係。公共衛生季刊。1993,10. In Press.
- 69.E. Berman, In: Toxic Metals and Their Analysis. Heyden & Son, London, 1980.
- 70.Welz. B. Chap 10. In:Atomic Absorption Spectrometry. Second Completely Revised Edition. VCH 1985.
- 71.D.L. Tsalev. Lead. In:Atomic Absorption Spectrometry in Occupation and Environmental Health Practice. Vol II. Determination of Individual Elements. CRC Press. Inc. 1983;97-111.
- 72.A. Mizuike. General Aspects of Enrichment Techniques. In:Enrichment Techniques for Inorganic Trace Analysis. Springer-Verlag. 1983;5-8.
- 73.W. Frech, and A. Cedergren. Investigation of the Reaction Involved in Flameless AA Procedure. III.A Study of Factors Influencing the Determination of Pb in Strong NaCl Solution. Anal. Chem. 1977;88:57.

表 1：微量元素分析流程中系統性誤差發生之頻率

Step of operation	Type of error			
	Contamination	Absorption	Volatilization	Cross interferences by elements
	Reagents Tools Laboratory	Tools Interfaces		Chemical reactions Signal interferences Signal background
Sampling	+++	---	-	+/-
Sample preparation	+++	-	-	+/-
Dissolution, decomposition	+++	-	---	+/-
Separation, preconcentration	++	---	-	+/- +/- +/-
Determination	+	-	---	+/- +/- +/-

a:Reference 11.

b:+:元素濃度偵測數值增加 (+++:發現頻率較高, ++發生頻率中等, +:發生頻率較低)

-:元素濃度偵測數值減少 (---:發現頻率較高, --發生頻率中等, -:發生頻率較低)

+/-:元素濃度偵測數值增加或減少皆可能發生。

表 2 : 中子活化分析之儀器偵測極限(ppm)^a

	NAA		NAA
Ag	0.0055	Na	0.00035
Al	0.00005	Nb	0.5
As	0.0001	Nd	0.005
Au	0.00015	Ni	0.0015
B	—	Os	0.001
Ba	0.0025	P	0.001
Be	—	Pb	0.1
Bi	0.02	Pd	0.0025
Br	0.00015	Pr	0.0001
Ca	0.19	Pt	0.005
Cd	0.0025	Rb	0.0015
Ce	0.005	Re	0.00003
Cl	0.0015	Rh	0.005
Co	0.001	Ru	0.005
Cr	0.01	S	0.2
Cs	0.0015	Sb	0.0002
Cu	0.00035	Sc	0.0001
D	0.000001	Se	0.0025
Er	0.001	Sm	0.00003
Eu	0.000001	Si	0.05
Fe	0.45	Sn	0.01
Ga	0.00235	Sr	0.03
Gd	0.001	Ta	0.00035
Ge	0.002	Tb	0.0002
Hf	0.001	Te	0.005
Hg	0.0065	Th	—
Ho	0.00002	Ti	0.05
I	0.0001	Tl	0.03
In	0.000005	Tm	0.0001
Ir	0.000015	U	0.0005
K	0.004	V	0.00005
La	0.0001	W	0.00015
Li	—	Y	0.0005
Lu	0.000015	Yb	0.0001
Mg	0.03	Zn	0.0003
Mn	0.00003	Zr	0.015
Mo	0.005		

a:Reference 11,16

表 3：樣品冷凍乾燥前處理流程

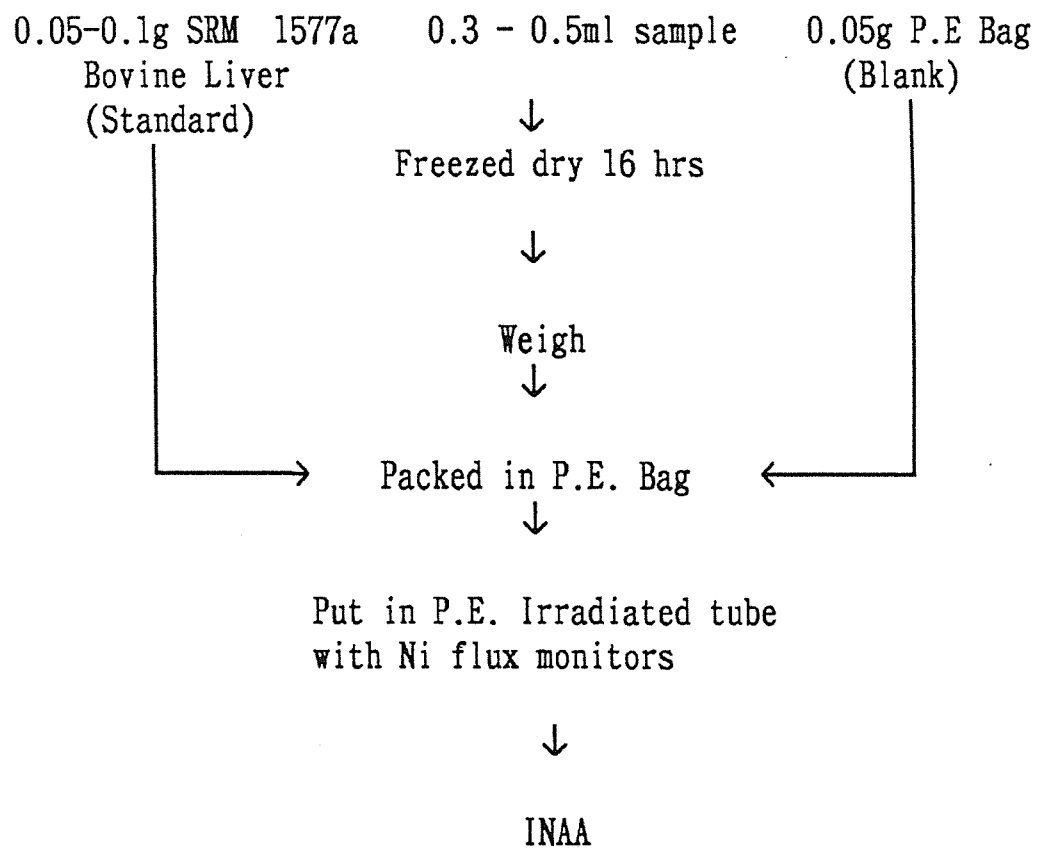


表 4: Irradiation and counting details of human serum using the THOR facility at the NTHU

Cooling time	Counting time	Nuclide sought	Gamma-energy KeV	Half-life
2 min	300 sec	^{24}Na	1368.53	15.0 hrs
		^{27}Mg	843.76	94.5 min
		^{28}Al	1778.90	2.24 min
		^{38}Cl	1642.40	37.3 min
		^{42}K	1524.70	12.5 hrs
		^{52}V	1434.40	3.75 min
		^{66}Cu	1039.00	5.10 min
3 min	1300 sec	^{56}Mn	846.60	2.59 hrs
		^{80}Br	617.00	17.6 min
		^{49}Ca	3083.00	8.8 min
25 min	300 sec	^{65}Ni	1481.70	2.56 hrs

a. Sample to Detector distance in the gamma-ray Spectrometer was 10cm

b. Ni flux monitors used for neutron fluence measurement

表 5：以中子活化分析技術偵測牛肝標準品元素含量

Element	Certified Values	This work
Na (% wt)	0.243±0.013	0.239±0.005
Mg (μ g/g)	600±15	578±28
Al (μ g/g)	2 ^a	1.9±0.3
Cl (% wt)	0.28±0.01	0.27 ±0.01
K (% wt)	0.996±0.007	0.990±0.040
V (μ g/g)	0.099±0.008	0.118±0.022
Mn (μ g/g)	9.9±0.8	8.7±0.8
Cu (μ g/g)	158±7	161±7
Br (μ g/g)	9 ^a	10.4±0.8
Ca (μ g/g)	120±7	115±33

a: Non certified values of Constituent elements

表 6：健康成人血清中多種元素含量

元素種類	偵測方式	N 數	Mean±SD (Range)	Reference data ^a
Na (% wt dry weight)	INAA	94	3.07±0.60	2900-3560 mg/L (3.19-3.92% wt) ^b
Mg (μ g/g dry weight)	INAA	85	293.50±105.85	1.809±0.132 meq/L (237.60±15.76 μ g/g)
Al (μ g/g dry weight)	INAA	83	3.25±1.10	3.7-4830 ng/ml < 10 μ g/L (0.004-53.13 μ g/g)
Cl (% wt dry weight)	INAA	94	3.46±0.64	3456-3816 ng/ml (3.81-4.20 % wt)
Mn (μ g/g dry weight)	INAA	73	0.66±0.37	0.54-34.3 ng/ml (0.006-0.37 μ g/g)
Br (μ g/g dry weight)	INAA	84	51.26±19.14	3.2-5.6 μ g/ml (35.2-61.6 μ g/g)
Ca (μ g/g dry weight)	INAA	86	1023.80±329.69	70-100 mg/L (770-1100 μ g/g)

a:Reference Data are Obtained from Previous Studies(20-24)

b:Conversion Factors:

1.Values can be recalculated into mg/kg, ng/g or μ g/g
by multiplying them by 11. (Reference 25)

2.From meq/L to mg/L. multiplying by eq/wt (atomic wt/valence)

表 7: 血清、尿液樣品微波消化條件^{a, b}

File name	Program Stage	Power ^c (%)	Pressure ^d (psi)	Run Time ^e (min)	TAP Time ^f (min)	FAN Speed ^g (%)
Serum2	1	40	60	03:00	02:00	100
	2	60	85	05:00	03:00	100
	3	75	130	08:00	03:00	100
	4	90	150	03:00	03:00	100
	5	100	180	03:00	03:00	100
Urine1	1	30	60	03:00	02:00	100
	2	50	85	05:00	03:00	100
	3	70	130	08:00	03:00	100
	4	90	150	03:00	02:00	100
	5	100	180	03:00	01:00	100

a. Number of Vessels: 12

b. Acid: HNO₃ plus HClO₄

c: The range for power is 0-100 percent (630 watts ± 50 watts)

d: The pressure level to be attained inside the vessel.

e: This is the run time for the current stage.

f: This is a control parameter used to end a stage prior to the run time, should the system reach PROGRAMMED PRESSURE for the TAP time.

g: The range for the speed is 0-100 percent.

表 8：動物器官樣品微波消化條件^{a,b}

File name	Program Stage	Power ^c (%)	Pressure ^d (psi)	Run Time ^e (min)	TAP Time ^f (min)	FAN Speed ^g (%)
Organ1	1	40	60	05:00	03:00	100
	2	70	90	08:00	04:00	100
	3	90	130	05:00	03:00	100
	4	100	180	03:00	01:00	100
	5	0	20	00:00	00:00	100

a.Number of Vessels:12

b.Acid: HNO₃ plus HClO₄

c:The range for power is 0-100 percent (630 watts±50 watts)

d:The pressure level to be attained inside the vessel.

e:This is the run time for the current stage.

f:This is a control parameter used to end a stage prior to the run time, should the system reach PROGRAMMED PRESSURE for the TAP time.

g:The range for the speed is 0-100 percent.

表 9 : 樣品微波消化前處理流程

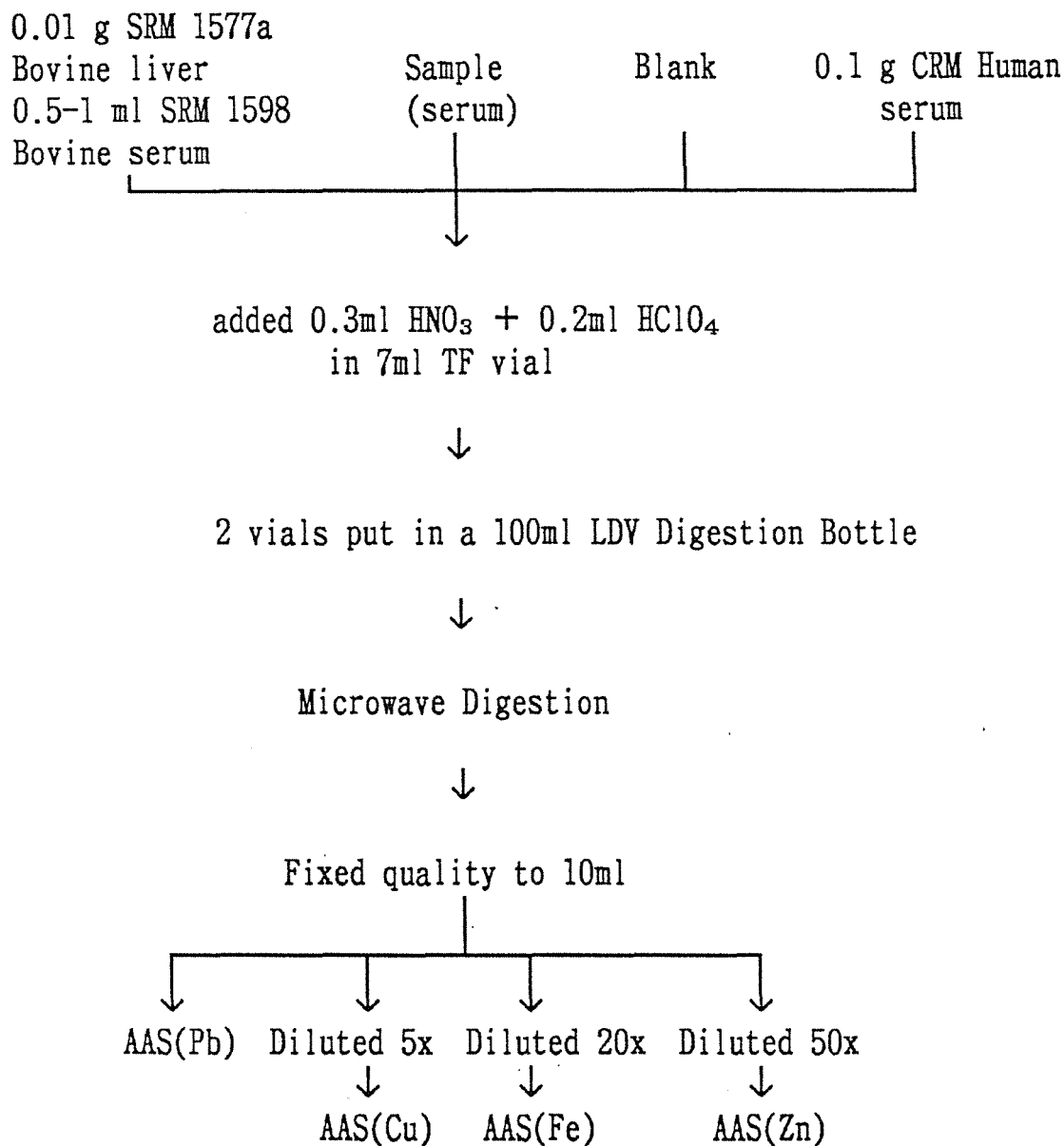


表 10： 原子吸收光譜儀之儀器偵測極限(ppm)^a

	FAAS	FAAS		GFAAS	FAAS
Ag	0.000005	0.0009	Na	<0.0005	0.0002
Al	0.00002	0.03	Nb	—	1.0
As	0.0002	0.1	Nd	—	—
Au	0.0001	0.006	Ni	0.0002	0.004
B	0.015	0.7	Os	—	—
Ba	0.00015	0.008	P	0.004	50
Be	0.00003	—	Pb	0.00005	0.01
Bi	0.0001	0.02	Pd	0.001	—
Br	—	—	Pr	—	—
Ca	0.00005	0.001	Pt	0.0002	0.04
Cd	0.000003	0.0005	Rb	0.0002	—
Ce	—	—	Re	—	—
Cl	—	—	Rh	0.001	—
Co	0.0001	0.006	Ru	—	—
Cr	0.00001	0.002	S	—	—
Cs	0.001	—	Sb	0.00015	—
Cu	0.00002	0.001	Sc	—	—
D	—	—	Se	0.0005	0.07
Er	—	—	Sm	—	—
Eu	—	—	Si	0.0002	0.06
Fe	0.00002	0.003	Sn	0.0003	0.1
Ga	0.0003	—	Sr	0.0002	—
Gd	—	—	Ta	—	1.0
Ge	—	—	Tb	—	—
Hf	—	—	Te	0.0001	0.02
Hg	0.002	0.2	Th	—	—
Ho	—	—	Ti	0.001	0.05
I	—	—	Tl	0.0001	0.009
In	0.0003	—	Tm	—	—
Ir	0.02	—	U	—	11.0
K	0.00002	0.002	V	0.0002	0.04
La	—	—	W	—	1.0
Li	0.0003	0.005	Y	—	—
Lu	—	—	Yb	—	—
Mg	0.000004	0.0000	Zn	0.00000	1 0.00008
Mn	0.00001	0.001	Zr	—	0.4
Mo	0.00007	0.03			

a:Reference 11,43

b:FAAS:火焰式原子吸收光譜儀

GFAAS:石墨爐式原子吸收光譜儀

表 11：原子吸收光譜儀元素偵測條件(前處理：微波消化)

	Cu	Fe	Zn	Pb
Method	GFAAS	GFAAS	GFAAS	GFAAS
Lamp				
Energy/wave length	70/324.8	61/248.6	63/213.9	69/283.3
Matrix modifier	None	None	None	None
Dry 1				
Temperature(°C)	110	110	110	110
Ramp/Hold (sec)	1/30	1/20	1/30	1/30
Gas Flow (ml/min)	250	250	250	250
Dry 2				
Temperature(°C)	130	130	130	130
Ramp/Hold (sec)	10/30	10/30	10/30	10/30
Gas Flow (ml/min)	250	250	250	250
Pyrolysis				
Temperature(°C)	500	900	200	300
Ramp/Hold (sec)	10/20	10/20	10/20	10/20
Gas Flow (ml/min)	250	250	250	250
Atomize				
Temperature(°C)	2000	2100	1400	1400
Ramp/Hold (sec)	0/5	0/5	0/5	0/5
Gas Flow (ml/min)	0	0	0	0
Clean out				
Temperature(°C)	2400	2400	2400	2400
Ramp/Hold (sec)	1/5	1/2	1/2	1/5
Gas Flow	250	250	250	250

Condition Reference: Modified by Running the THGA (Transversely Heated Graphite Atomized) Graphite Furnace : Techniques and Recommended Condition (Perkin-Elmer Corp.)

表 12: 火焰式原子吸收光譜儀偵測銅、鐵元素之設定條件

	Cu	Fe
Wavelength	324.8	248.3
Slit width	0.7	0.2
Lamp current	15 mA	30 mA
Flame gases	A-Ac	A-Ac

表 13：以微波消化技術配合原子吸收光譜儀偵測添加 (Spike) 試驗樣品之回收率

	Cu	Fe	Zn	Pb
Sample Concentration (ug/L) ^a	1148±15.9	3975±73.4	783.8±155.3	4.6±0.6
Adding Spike Concentration (ug/L)	1500.7±19.8	2082.4±94.2	511±29.3	9.6±0.5
Measure spike concentration (ug/L) ^b	1649.7±39.8	2063.4±57.1	490.9±106.2	9.3±1.1
Average Recovery (%) ^c	107.6±2.7	99.1±5.3	96.1±2.3	96.9±12.9

a,b: Sample concentration are obtain from five mixed serum specimens

$$c : \text{Average recovery (\%)} = \frac{\text{Measure of spike concentration}}{\text{Adding spike concentration}}$$

表 14: Quality Control Using Standard Reference Materials in the Work^{a,b}

Element	Certified value ^c (Mean±SD)	This Work (Mean±SD)	Program of Microwave Acid Digestion
SRM 1577a			
Pb (ug/g)	0.135±0.015	0.143±0.037	Serum 2 (Urine 1)
Cu (ug/g)	158±7	163.25±9.40	
Zn (ug/g)	123±8	117.35±6.97	
Fe (ug/g)	194±20	195.53±8.41	
SRM 1598			
Cu (ug/g)	0.72±0.04	0.80±0.19	Serum 2
Zn (ug/g)	0.89±0.06	0.93±0.17	
Fe (ug/g)	2.55±0.10	2.89±0.27	
SRM Human Serum			
Cu (ug/g)	11.1 (10.7-11.5)	11.81±0.09	Serum 2 (Urine 1)
Zn (ug/g)	9.6 (9.4-9.8)	10.87±1.41	
Fe (ug/g)	25.9 (24.4-27.4)	25.91±0.32	

a:Program of microwave acid digestion are listed in Table 8.

b:Perkin-Elmer 5100PC graphite furnace AAS ia used for element concentration.

c:Certified value with , in parentheses , 95% certified limits.

表 15：標準參考物質 SRM 1577a 牛肝標準品中銅與鐵之分析^{a, b}

SRM 1577a Bovine Liver			
Element	Certified value (Mean±SD)	This work (Mean±SD)	Program of Microwave Acid Digestion
Cu	158±7	164.8±5.7	Organ 1
Fe	194±20	210.3±11.1	Organ 2

a. Program of microwave acid digestion are listed in Table 8.

b. Perkin-Elmer 3300PC flame AAS is used for measurement of element concentration.

表 16：血清尿液檢體中金屬元素含量^a

Sample Element	Sample Number	Mean±SD	Reference Data ^{b,c}
Human Serum			
Pb (ug/L)	44	10.90± 6.50	85.50±56.70
Fe (ug/L)	53	1366.49±591.61	800 - 1200
Cu (ug/L)	53	959.30±183.51	815 - 1370
Zn (ug/L)	53	766.75±311.69	800 - 1100
Human Urine			
Cu (ug/g Creatinine)	44	25.83±14.84	-
Fe (ug/g Creatinine)	44	245.41±187.91	-

a:Perkin-Elmer 5100PC graphite furnace AAS is used for measurement of element concentration.

b:Reference data are obtained from previous studies (18-20,40-42)

c:Reference data of Pb concentration are obtained from human whole blood. Concentration of Fe Cu Zn are obtained from serum

表 17：老鼠心臟器官中 Cu 與 Fe 之濃度($\mu\text{g/g}$ wet weight)^a

品系	延遲採樣時間	元素濃度	
		Cu	Fe
Wistar	0 小時	5.45±1.19 (4) ^b	128.63±15.51 (4)
	4 小時	4.55±0.30 (3)	101.50± 7.81 (3)
	16 小時	5.66±0.67 (4)	140.15±35.23 (4)
	24 小時	5.66±0.53 (4)	121.38± 7.40 (4)
SHR	0 小時	4.65±0.42 (3)	92.57± 4.74 (3)
	4 小時	4.93±0.43 (3)	109.63±21.80 (3)
	16 小時	4.83±0.58 (3)	108.37± 8.78 (3)
	24 小時	5.57±0.06 (3)	113.30±12.21 (3)

a:Perkin-Elmer 3300PC flame AAS is used for measurement of element concentration

b:各組中老鼠器官之採得數目

表 18：老鼠肺臟器官中銅與鐵之濃度 ($\mu\text{g/g wet weight}$)^a

品系	延遲採樣時間 (小時)	元素濃度	
		Cu	Fe
Wistar	0	1.70±0.07 ^c (4) ^b	205.90±69.13 (4)
	4	1.53±0.13 ^d (3)	191.70±65.60 (3)
	16	2.08±0.37 (3)	352.83±129.54 (3)
	24	2.14±0.34 ^{c,d} (4)	336.80±172.50 (4)
SHR	0	0.83±0.19 ^e (3)	124.37±17.98 ^f (3)
	4	1.32±0.33 (3)	251.93±41.75 (3)
	16	1.60±0.18 ^e (3)	276.20±135.05 (3)
	24	1.25±0.23 (3)	332.85±67.67 ^f (4)

a:Perkin-Elmer 3300PC flame AAS is used for measurement of element concentration

b:各器官中老鼠器官之採得數目

c,d,e,f:P < 0.05

表 19：老鼠肝臟器官中銅與鐵之濃度 ($\mu\text{g/g wet weight}$)^a

品系	延遲採樣時間 (小時)	元素濃度	
		Cu	Fe
Wistar	0	4.19±0.96 (4) ^b	490.47±141.92 (3)
	4	4.82±1.81 (3)	468.93±192.84 (3)
	16	4.55±0.75 (4)	594.90±112.16 (4)
	24	5.75±2.17 (4)	692.88±113.86 (4)
SHR	0	4.00±1.50 (3)	251.87± 85.76 (3)
	4	4.75±1.01 (3)	264.30± 2.10 (3)
	16	4.50±0.05 (3)	259.73±112.43 (3)
	24	3.70±0.22 (3)	240.40± 42.77 (3)

a: Perkin-Elmer 3300PC flame AAS is used for measurement of element concentration

b: 各器官中老鼠器官之採得數目

表 20：老鼠腎臟器官中銅與鐵之濃度 ($\mu\text{g/g}$ wet weight)^a

品系	延遲採樣時間 (小時)	元素濃度	
		Cu	Fe
Wistar	0	19.45±2.64 (4) ^b	268.15±65.59 (4)
	4	25.30±12.30 (3)	276.23±38.40 (3)
	16	10.17±1.07 (4)	255.63±54.82 (4)
	24	18.08±7.21 (3)	246.05±35.56 (4)
SHR	0	7.52±2.60 (3)	125.17± 25.50 (3)
	4	7.01±2.12 (3)	150.73± 8.96 (3)
	16	6.43±1.87 (3)	132.77± 22.53 (3)
	24	6.17±0.98 (3)	130.20± 10.54 (3)

a: Perkin-Elmer 3300PC flame AAS is used for measurement of element concentration

b: 各器官中老鼠器官之採得數目

表 21：老鼠脾臟器官中 Cu 與 Fe 之濃度($\mu\text{g/g wet weight}$)^a

品系	延遲採樣時間 (小時)	元素濃度	
		Cu	Fe
Wistar	0	1.64 \pm 0.57 (4) ^b	9547.75 \pm 3165.73 (4)
	4	1.50 \pm 0.10 (3)	7018.63 \pm 1576.93 (3)
	16	2.51 \pm 0.73 (4)	11582.35 \pm 3335.81 (4)
	24	2.01 \pm 0.45 (4)	—
SHR	0	1.17 \pm 0.29 (3)	717.00 \pm 243.85 (3)
	4	1.35 \pm 0.30 (3)	909.17 \pm 83.80 (3)
	16	2.03 \pm 0.50 (3)	776.90 \pm 158.47 (3)
	24	1.63 \pm 0.19 (3)	1044.25 \pm 467.33 (2)

a: Perkin-Elmer 3300PC flame AAS is used for measurement of element concentration

b: 各組中老鼠器官之採得數目

表 22：臺灣不同地區之總微粒及鉛微粒濃度^a

地 區	項 目	
	總微粒濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	鉛濃度 (μ/m^3)
台北市	617	1.82
福隆海水浴場	117	0.61
頭份，竹南	139	0.40
興達電場	102	0.72
墾丁公園	40	0.20
曾文水庫	203	0.32
澎湖	58	0.08
蘭 嶼	45	0.03

a:Reference 56

表 23：血中鉛濃度與人體之反應^a

血中鉛濃度 (μ g/dl)	人 體 反 應	影響之人群
>10	紅血球 ALA 去氫 受抑制	成人與小兒
20-35	紅血球原紫質 (FEP) 上升	成人與小兒
30-40	紅血球腺核甘三磷酸 (ATPase)受抑制	成人與小兒
40	尿中 ALA 增加	成人與小兒
	尿中 CP 增加	成人
	貧血	小兒
40-50	週邊性神經病變	成人
50	貧血	成人
50-60	輕微腦障礙	小兒
60-70	輕微腦障礙	成人
60-70	鉛腦症	小兒
>80	鉛腦症	成人

a: Reference 49

b: ALA = δ -Aminolevulinic acid; CP=Coproporphyrin;
FEP=Free Erythrocyte Protoporphyrin

表 24： 原子吸收光譜儀鉛元素偵測條件

Instrumental Parameters	
Lamp	Hollow Cathode Lamp
Lamp Current	10 mA
Energy/Wave Length	69/283.3 nm
Spectral Band Width	0.7 nm low
Mode	AA/BG (Zeeman)
Measurement Type	Peak Area
Integration Time	5 sec
Calibration Curve Fit	Nonlinear
Sample Volume	20ul
Sheath gas	Ar
Furnace Program	
Dry 1	
Temperature(°C)	110
Ramp/Hold(sec)	1/20
Gas Flow(ml/min)	250
Dry 2	
Temperature(°C)	130
Ramp/Hold(sec)	10/30
Gas Flow(ml/min)	250
Pyrolysis	
Temperature(°C)	800
Ramp/Hold(sec)	10/25
Gas Flow(ml/min)	250
Cool-Down	
Temperature(°C)	20
Ramp/Hold(sec)	1/5
Gas Flow(ml/min)	250
Atomize	
Temperature(°C)	1600
Ramp/Hold(sec)	0/5
Gas Flow(ml/min)	0
Clean Out	
Temperature(°C)	2400
Ramp/Hold(sec)	1/5
Gas Flow(ml/min)	250

表 25：以不同稀釋液處理之全血標準品中鉛元素偵測濃度數值(10 倍稀釋)^a

Sample	Certified Value	Values in This Work (mean±SD)	
		A Diluent ^b	B Diluent ^b
Whole Blood II (Seronorm)	394	397.7±5.7 ^c (100.9%) ^e	378.4±6.6 ^c (96%) ^e
Whole Blood 1 Control (Lyphochek)	72 (61-82) ^d	64.8±3.7 (90%)	44.0±3.4 (61.1%)
2	245 (208-282)	235.6±8.3 (96.2%)	211.0±8.5 (86.1%)
3	554 (471-637)	542.1±11.4 (97.9%)	536.8±14.6 (96.9%)

a. Results in $\mu\text{g/L}$.

b. A Diluent: 0.2% nitric acid plus 1% Triton X-100.

B Diluent: 10^{-3}M nitric acid plus 0.1% Triton X-100.

c. Results of Determination are Average from 10 Times Replication.

d. Acceptable Range.

e. Average Accuracy Comparison with Certified Values.

表 26：以不同稀釋液處理之全血標準品儀器偵測之背景平均值(10 倍稀釋)^a

Sample	Background Area (mean±SD)	
	A Diluent ^b	B Diluent ^b
Whole Blood II (Seronom)	0.61±0.01 ^c	0.95±0.01 ^c
Whole Blood 1 Control	0.62±0.02	1.07±0.02
(Lyphochek) 2	0.63±0.02	1.07±0.03
3	0.63±0.01	1.06±0.02

a.Results in Background Peak Area Value.

b.A Diluent:0.2% nitric acid plus 1% Triton X-100.

B Diluent:10⁻³M nitric acid plus 0.1% Triton X-100.

c.Results of Determination are Average from 10 Times Replication.

表 27：盲樣測試樣品鉛元素濃度^a

		第一次測試		第二次測試	
		真實濃度	偵測濃度 ^b	真實濃度	偵測濃度 ^b
盲樣	Level I	55.40 (49.86-60.94) ^c	58.94±2.09 (106.4%) ^d	24.50 (20.50-28.50)	24.74±0.85 (101%)
盲樣	Level II	7.20 (3.20-11.20)	6.82±0.31 (94.7%)	7.20 (3.20-11.20)	7.11±0.35 (98.8%)
盲樣	Level III	24.50 (20.50-28.50)	24.31±1.01 (99.2%)	55.40 (49.86-60.94)	54.74±1.59 (98.8%)

a.Results in $\mu\text{g/dL}$, Sample are 1:9 diluted with A diluent.

b.Results of Determination are Average from 6 times Replication.

c.Acceptable Range (Certified value $\pm 4 \mu\text{g/dL}$ or 10%)

d.Average Accuracy Comparison with Certified Value.

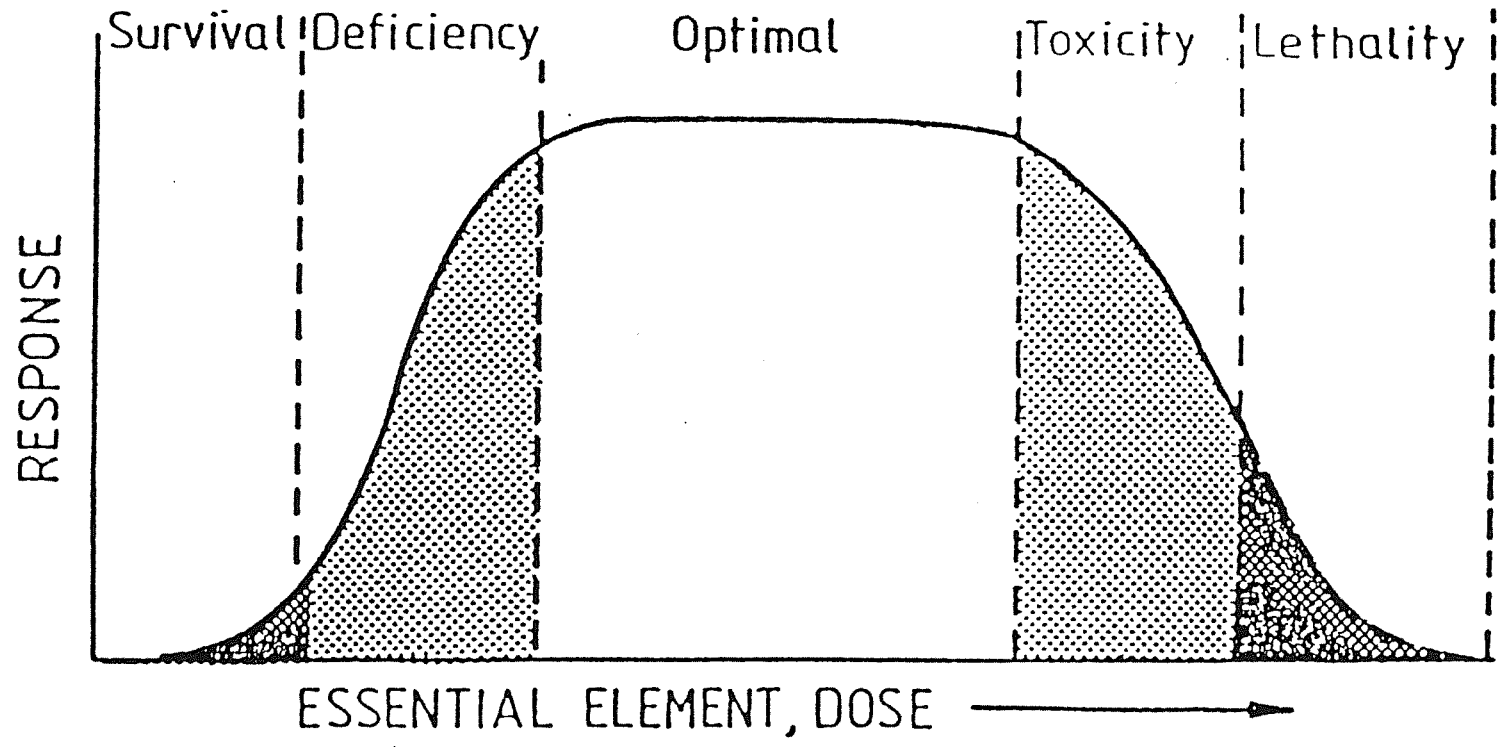


圖 1：必需微量元素之劑量與效應關係圖^a
a:Reference 5

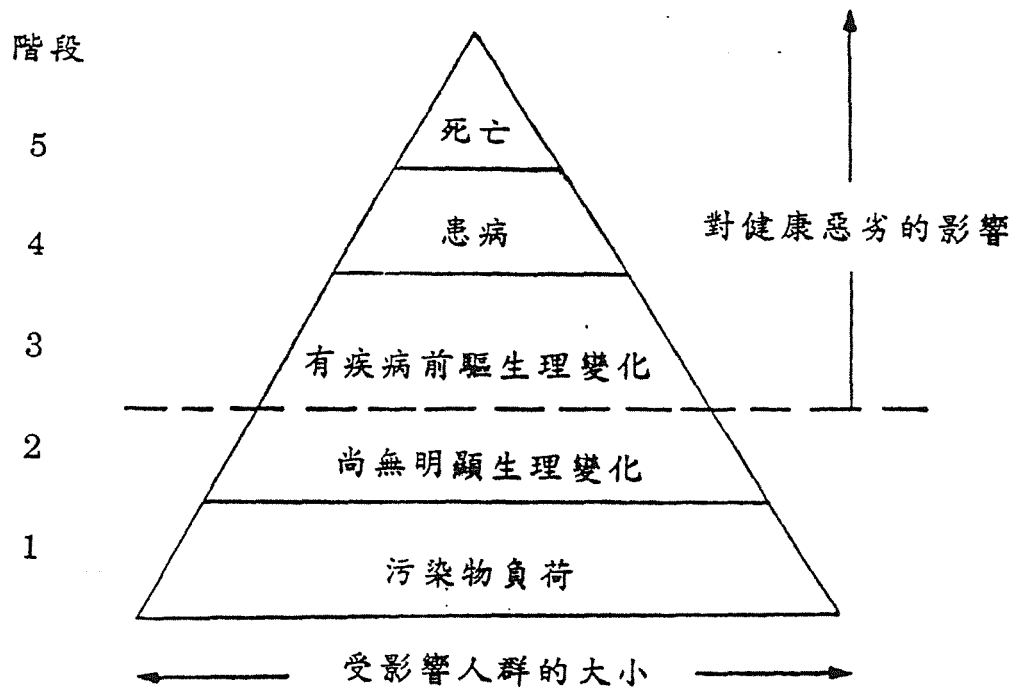


圖 2：有害微量元素的生物學反應示意圖^a
 a:Reference 3,5

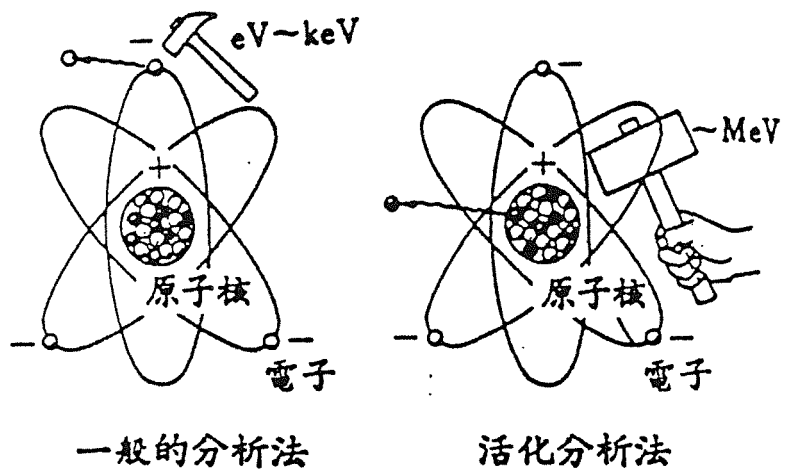


圖 3：一般分析法與活化分析法之差異^a
 a:Reference 16

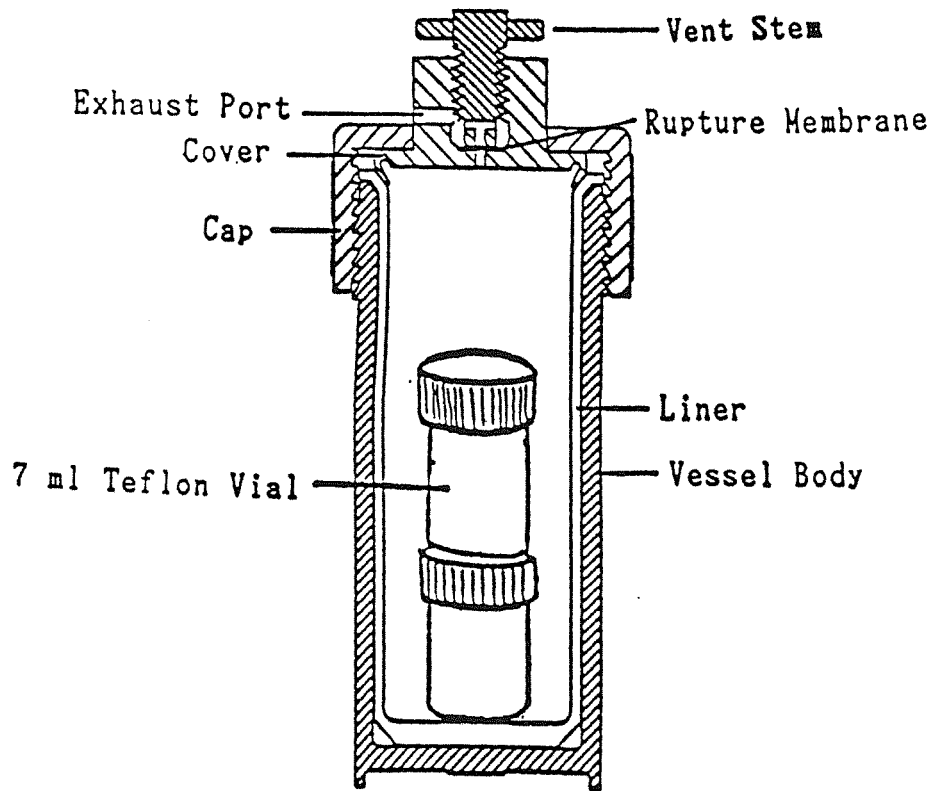


圖 4：雙重密閉式微波酸消化系統

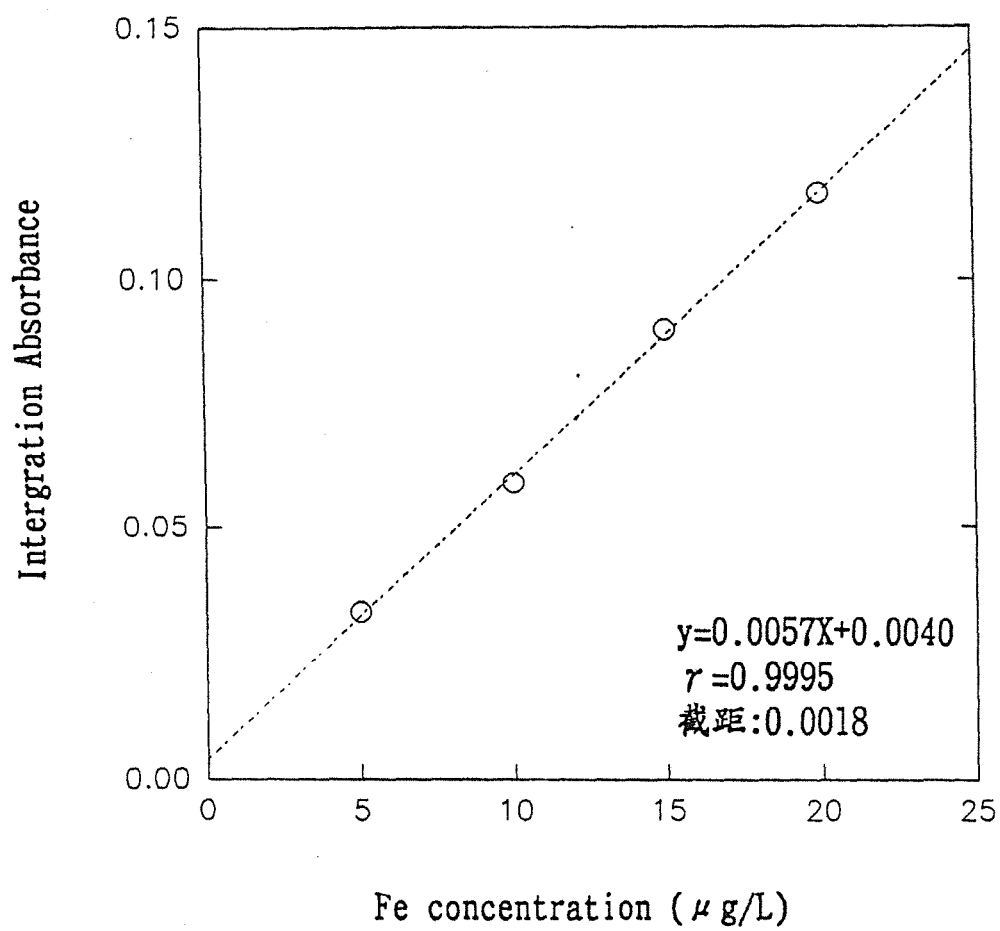


圖 5： 石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鐵元素之檢量線

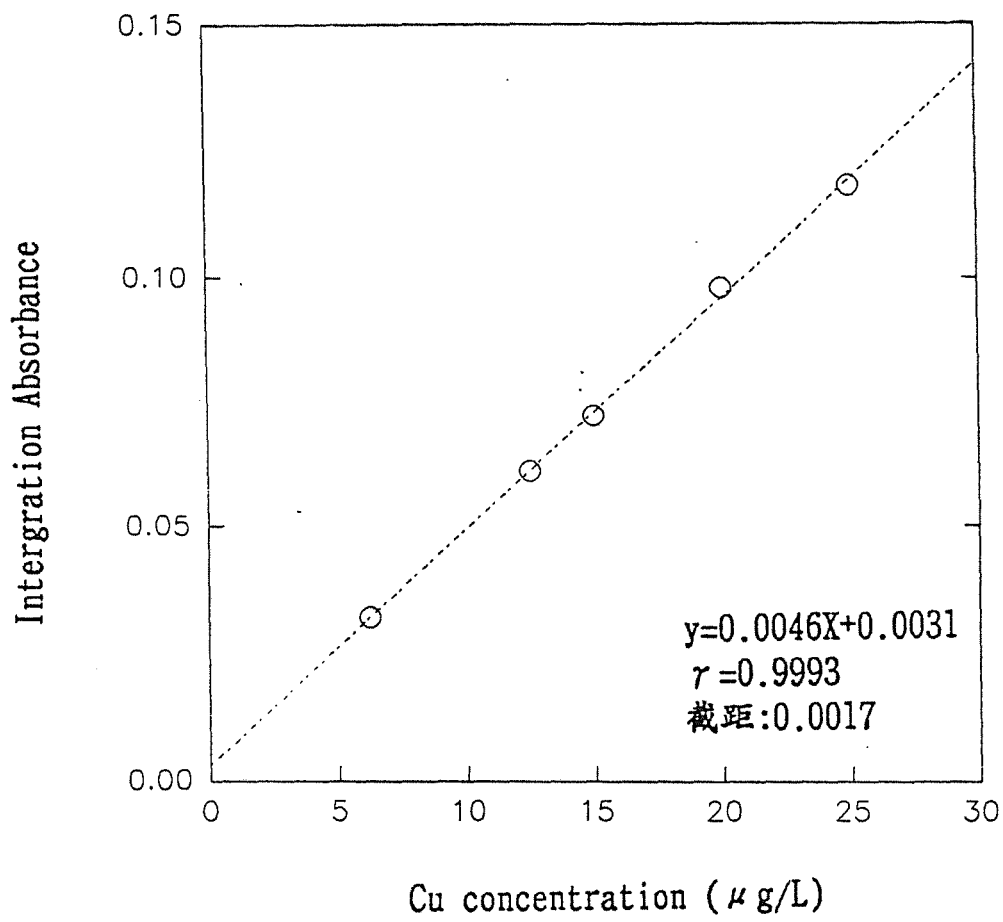


圖 6： 石墨爐式原子吸收光譜儀偵銅元素之檢量線

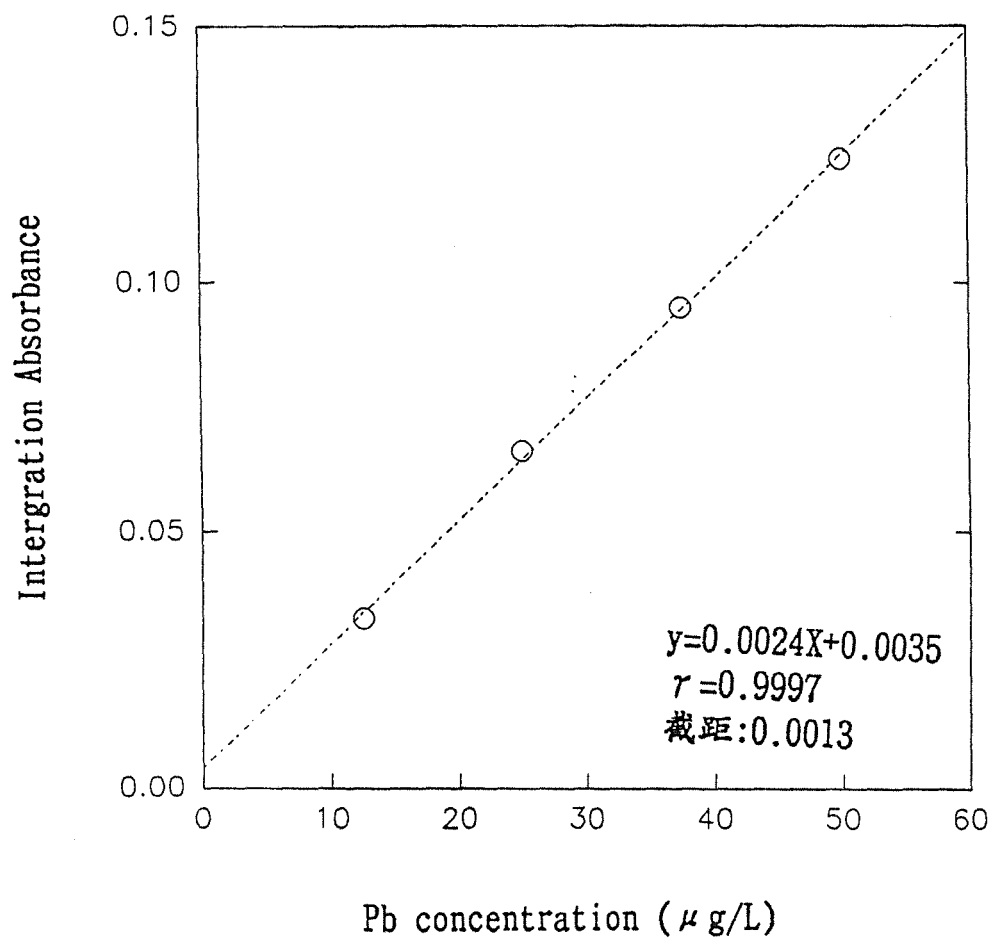


圖 7： 石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鉛元素之檢量線

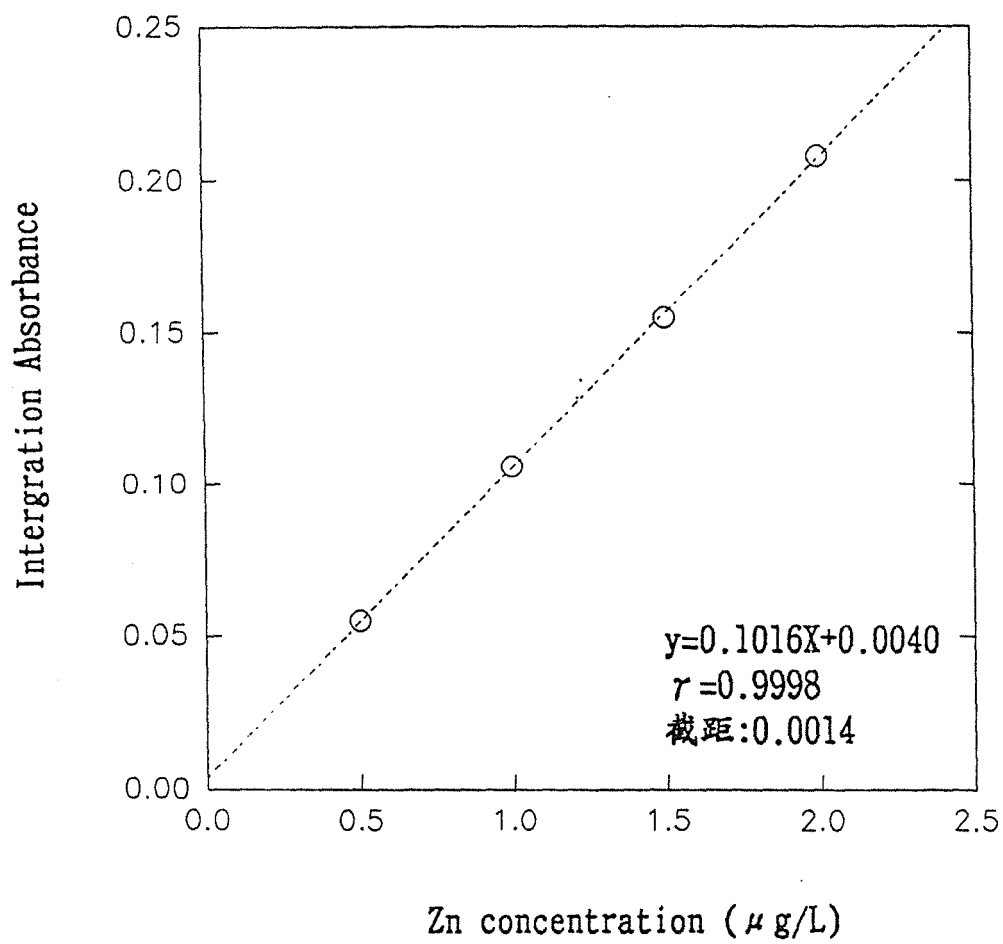


圖 8： 石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鋅元素之檢量線

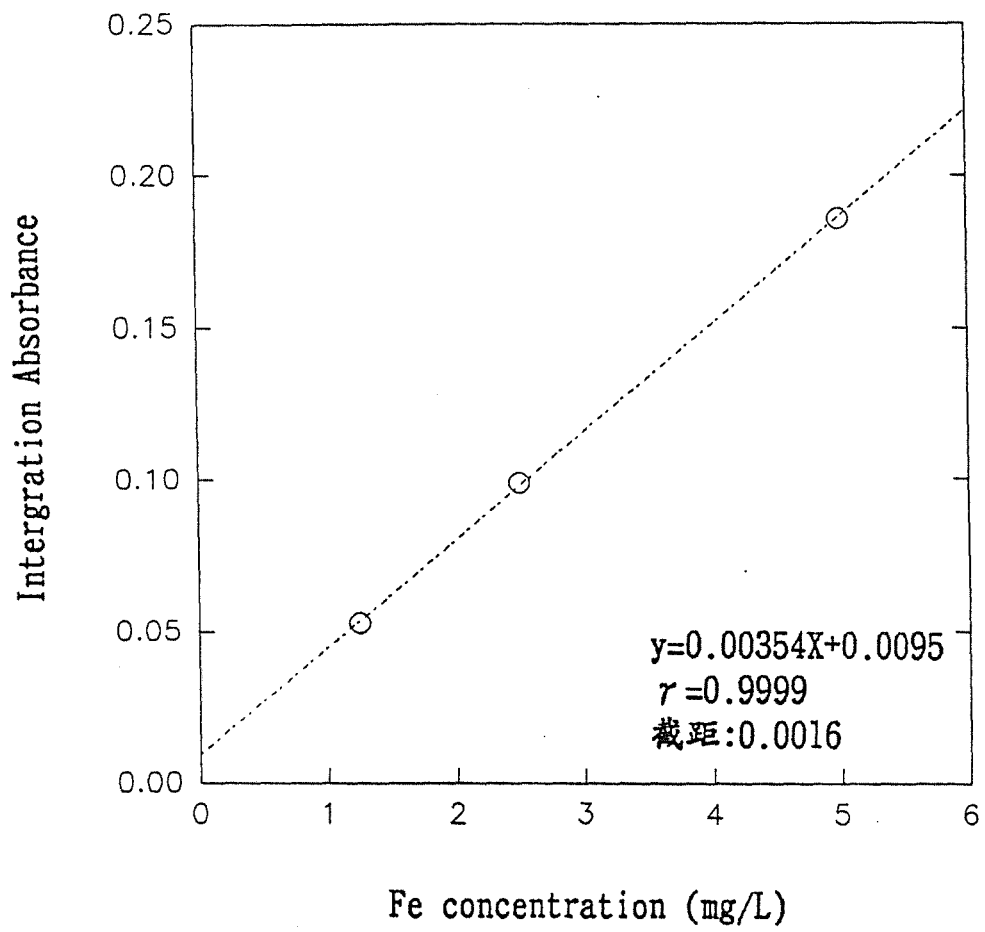


圖 9：火焰式原子吸收光譜儀偵測鐵元素之檢量線

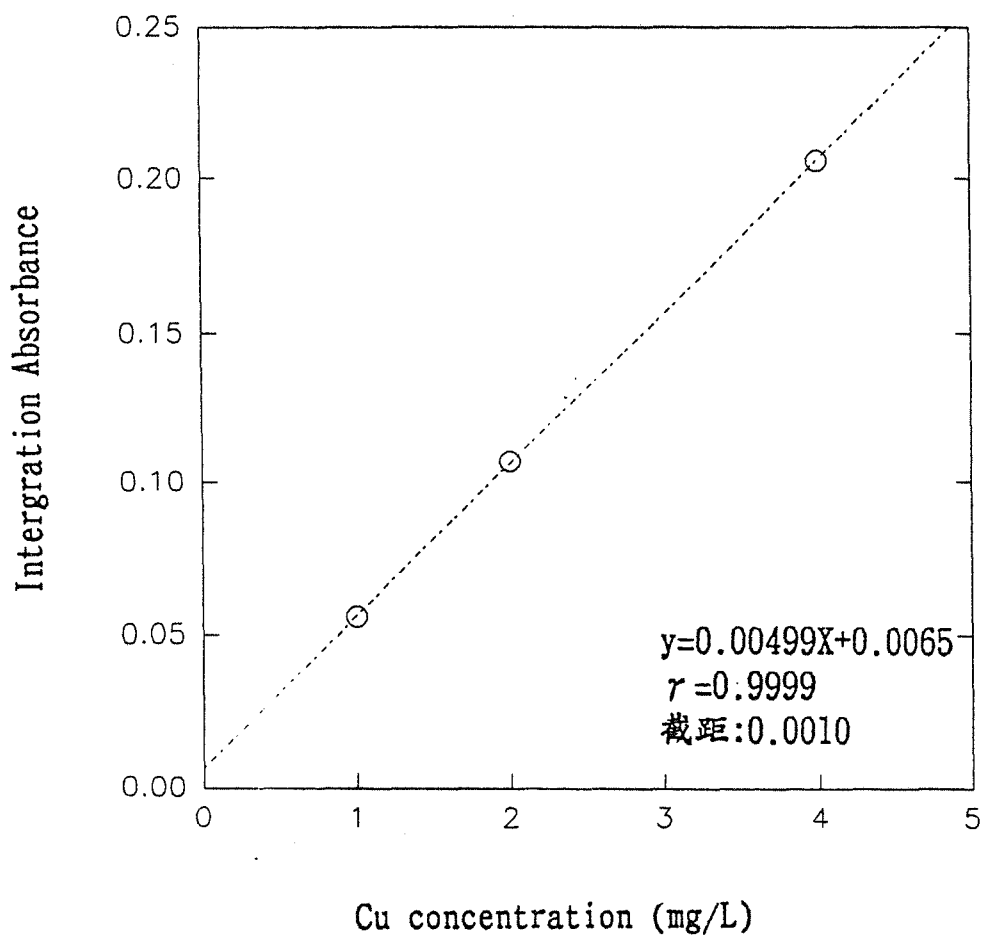


圖10：火鋸式原子吸收光譜儀偵測銅元素之檢量線

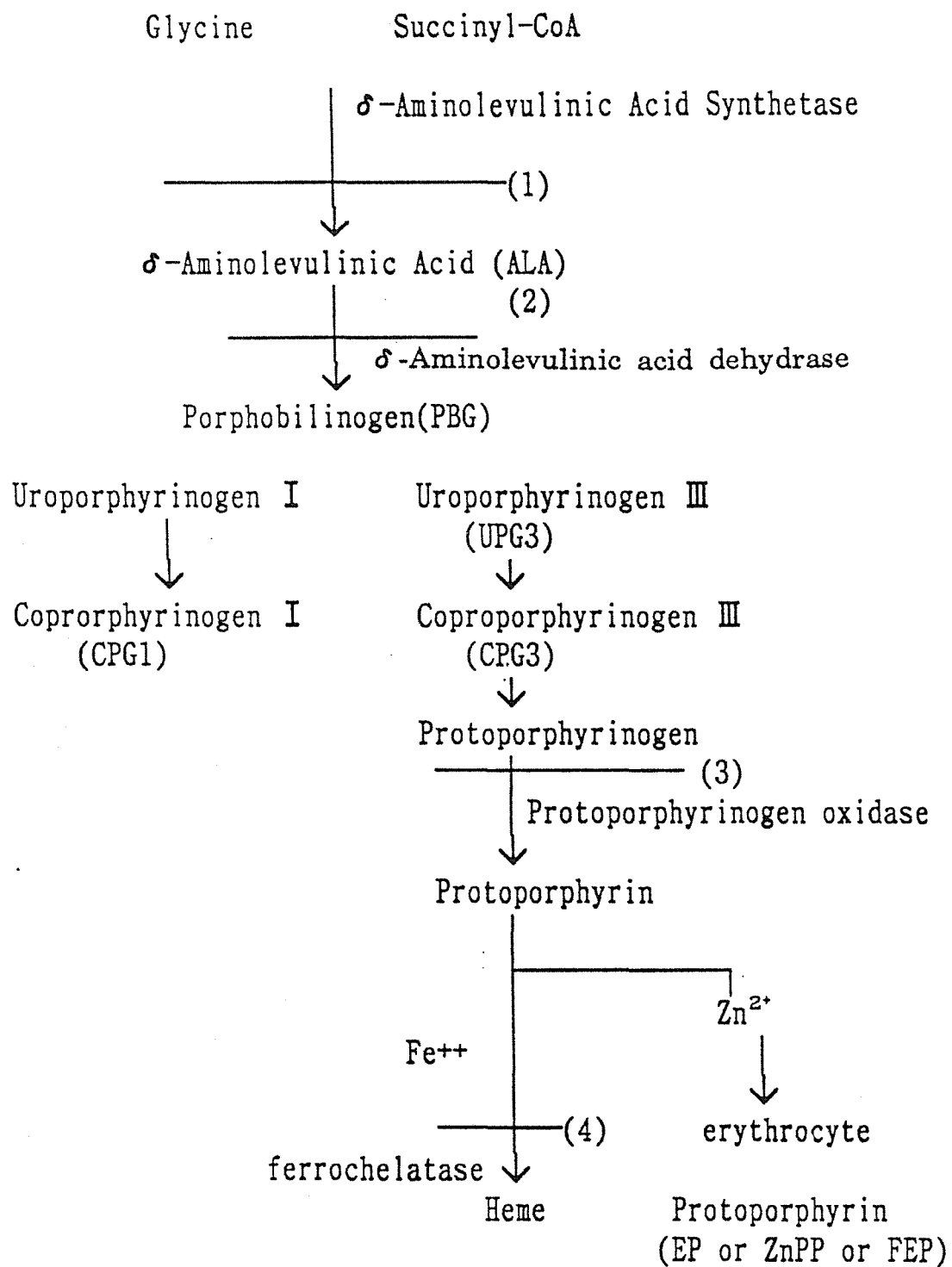


圖 11：血紅素原 (Heme) 合成途徑 (Reference 49)

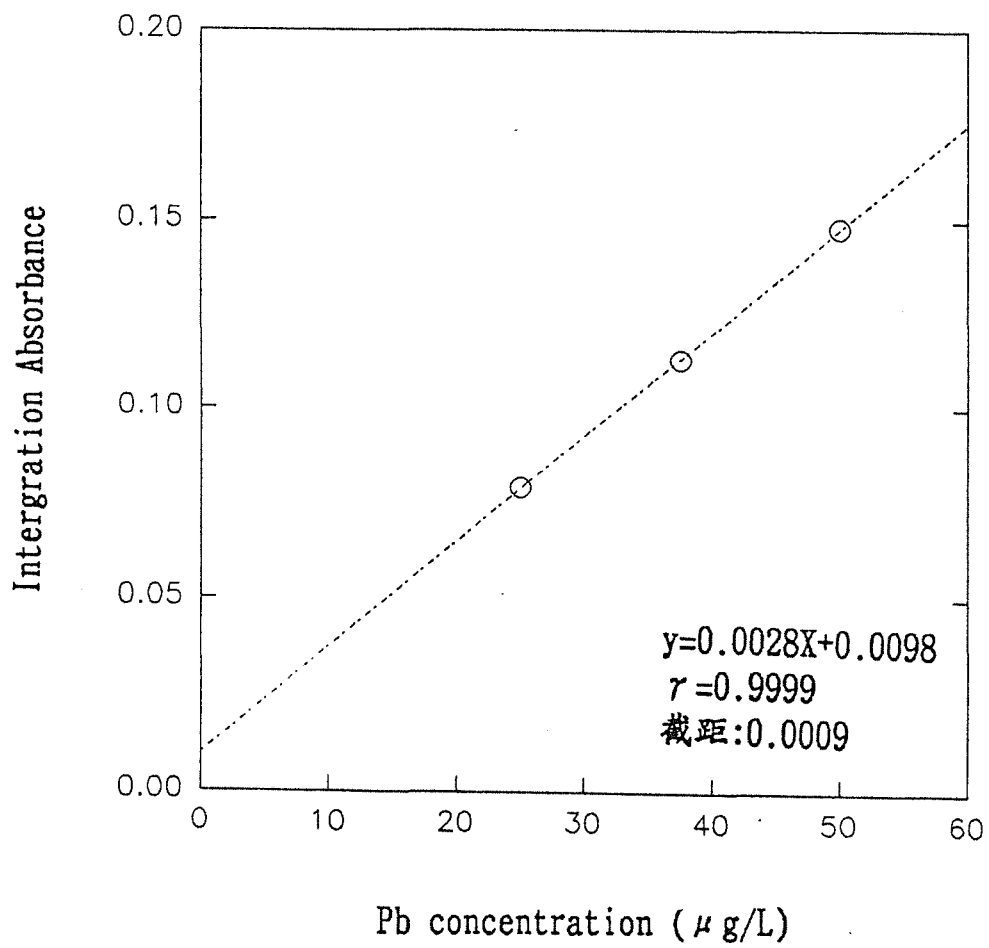


圖12： 石墨爐式原子吸收光譜儀偵測鉛元素之檢量線