

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

-----

**HÀ CÔNG KHANH**

**NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CANXI  
TRONG HUYẾT THANH PHỤC VỤ CHẨN ĐOÁN  
BỆNH CÒI XƯƠNG Ở TRẺ EM**

**Chuyên ngành: Hóa phân tích  
Mã số: 60.44.01.18**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học: TS. Vũ Đức Lợi**

**Thái Nguyên – Năm 2013**

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên tôi xin được gửi tới **TS. Vũ Đức Lợi** lời biết ơn chân thành và sâu sắc nhất. Thầy là người đã trực tiếp giao đề tài và tận tình hướng dẫn trong suốt quá trình thực hiện đề tài giúp tôi hoàn thành bản luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô, các anh chị và các bạn trong Phòng phân tích Viện Hóa Học –Viện KHCN Việt Nam đã giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài. Tôi xin chân thành cảm ơn BS,TS Nguyễn Gia Bình, Bệnh viện Quân đội 108, BS Phạm Anh Hoa, Bệnh viện Nhi Trung ương, đã giúp đỡ nhiệt tình trong khâu lấy mẫu và bảo quản mẫu. Tôi cũng xin chân thành cảm ơn đơn vị cơ quan nơi tôi công tác đã tạo điều kiện để tôi học tập, nghiên cứu và hoàn thành bản luận văn này.

Cuối cùng tôi xin được cảm ơn những người thân yêu nhất của tôi, đã luôn động viên, cổ vũ để tôi hoàn thành tốt luận văn của mình.

*Tôi xin chân thành cảm ơn!*

*Thái Nguyên, ngày 20 tháng 05 năm 2013*

***Học viên***

***Hà Công Khanh***

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi, các số liệu và kết quả của nghiên cứu nêu trong luận văn là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác.

*Tác giả*

*Hà Công Khanh*

**XÁC NHẬN  
CỦA KHOA HÓA HỌC**

**XÁC NHẬN  
CỦA CHỦ TỊCH HĐ CHẤM LUẬN VĂN**

**TS. Nguyễn Thị Hiền Lan**

**PGS TS. Lê Hữu Thiêng**

## MỤC LỤC

*Trang*

Trang bìa phụ	
Lời cảm ơn	
Lời cam đoan	
Mục lục.....	i
Danh các mục bảng .....	ii
Danh mục các hình.....	iii
Danh mục các kí hiệu, các chữ viết tắt.....	iv
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
<b>Chương 1. TỔNG QUAN</b> .....	<b>3</b>
1.1. Khái niệm về còi xương[9] .....	3
1.1.1. Khái niệm .....	3
1.1.2. Triệu chứng của bệnh còi xương.....	3
1.1.3. Những yếu tố nguy cơ của bệnh còi xương[9].....	5
1.1.3.1. Thiếu ánh sáng mặt trời.....	5
1.1.3.2. Chế độ ăn uống của trẻ.....	7
1.1.3.3. Sữa mẹ.....	10
1.1.3.4. Tình trạng Vitamin D của người mẹ .....	11
1.1.3.5. Tình trạng dinh dưỡng của trẻ.....	12
1.1.3.6. Nhiễm sắc tố da .....	13
1.1.3.7. Bệnh nhiễm khuẩn.....	13
1.1.3.8. Yếu tố chủng tộc .....	14
1.1.3.9. Một số yếu tố khác .....	14
1.1.4. Tổng hợp kết quả của thế giới nghiên cứu về bệnh còi xương[9] .....	16
1.2. Nguyên tố Canxi.....	19
1.2.1. Khái niệm hoá học .....	19
1.2.2. Nguồn lương thực và nhu cầu .....	20
1.2.3. Hàm lượng canxi trong cơ thể.....	21

1.2.4. Chu trình của Canxi .....	21
1.2.5. Vai trò của Canxi .....	22
1.2.6. Ảnh hưởng do thừa và thiếu Canxi .....	22
1.3. Các phương pháp phân tích Canxi .....	23
1.3.1. Phương pháp xác định $Ca^{2+}$ tự do .....	23
1.3.1.1. Phương pháp vi điện cực chọn lọc ion $Ca^{2+}$ .....	23
1.3.1.2. Phương pháp phát quang sinh học .....	24
1.3.1.3. Phương pháp tác nhân tạo phức với quá trình hấp thụ hoặc huỳnh quang phụ thuộc vào $Ca^{2+}$ .....	24
1.3.2. Phương pháp xác định tổng Canxi .....	25
1.3.2.1. Phương pháp phổ electron và phổ mất năng lượng electron .....	25
1.3.2.2. Phương pháp phát xạ tia X bởi proton(PIXE) .....	26
1.3.2.3. Phương pháp dùng hiển vi điện tử ion .....	26
1.3.1.4. Phương pháp sắc kí lỏng .....	27
1.3.2.5. Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử .....	27
1.4. Các phương pháp xử lý mẫu huyết thanh .....	28
1.4.1. Kỹ thuật vô cơ hoá khô .....	29
1.4.2. Kỹ thuật vô cơ hoá ướt ở áp suất khí quyển .....	30
1.4.3. Vô cơ hoá mẫu trong lò vi sóng áp suất cao .....	30
1.4.4. Kỹ thuật pha loãng và thay đổi thành phần nền .....	31
<b>Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>32</b>
2.1. Đối tượng và nội dung nghiên cứu .....	32
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu .....	32
2.1.2. Nội dung nghiên cứu .....	34
2.2. Lấy mẫu và bảo quản mẫu .....	35
2.3. Trang thiết bị và hoá chất .....	35
2.3.1. Trang thiết bị .....	35
2.3.2. Hoá chất và dụng cụ .....	35
2.3.2.1. Hóa chất .....	35

2.3.2.2. Dụng cụ .....	36
2.4. Phương pháp xử lý số liệu[10].....	36
2.5. Phương pháp phổ hấp thụ AAS[5].....	38
<b>Chương 3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN.....</b>	<b>43</b>
3.1. Xây dựng quy trình phân tích Canxi .....	43
3.1.1. Khảo sát các điều kiện đo phổ hấp thụ nguyên tử của Canxi .....	43
3.1.1.1. Lựa chọn kỹ thuật nguyên tử hóa.....	43
3.1.1.2. Khảo sát chọn bước sóng hấp thụ .....	43
3.1.1.3. Khảo sát khe đo .....	44
3.1.1.4. Khảo sát cường độ dòng đèn catot rỗng.....	45
3.1.2. Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến phép đo Canxi .....	47
3.1.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Natri.....	47
3.1.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Kali .....	48
3.1.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Magiê.....	49
3.1.2.4. Khảo sát ảnh hưởng của photpho .....	51
3.1.2.5. Nghiên cứu loại trừ ảnh hưởng của photpho.....	52
3.1.3. Xây dựng đường chuẩn xác định Canxi trong huyết thanh .....	53
3.1.4. Đánh giá phương pháp phân tích .....	55
3.1.4.1. Giới hạn phát hiện của phương pháp .....	55
3.1.4.2. Độ chính xác của phương pháp.....	56
3.1.4.3. Độ lặp lại của phương pháp .....	56
3.3. Kết quả nghiên cứu .....	57
3.3.1. Kết quả nghiên cứu trên mẫu đối chứng .....	57
3.3.2. Kết quả nghiên cứu trên bệnh nhân còi xương .....	59
<b>Chương 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>61</b>
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>61</b>
<b>KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>62</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>63</b>

## DANH CÁC MỤC BẢNG

Bảng 1.1: Sự thay đổi theo mùa và địa dư của nồng độ 25-OH-D trong huyết thanh.( ng/ml).....	6
Bảng 1.2: Nhu cầu Canxi cho cơ thể.....	20
Bảng 2.1: Bảng quy hoạch thực nghiệm phân tích phương sai một yếu tố. ....	37
Bảng 2.2: Phân tích phương sai một yếu tố. ....	37
Bảng 3.1: Kết quả khảo sát bước sóng đặc trưng của Canxi. ....	44
Bảng 3.2: Kết quả khảo sát khe đo đặc trưng đo Canxi.....	45
Bảng 3.3: Kết quả khảo sát cường độ dòng đèn catot rỗng của Canxi. ....	46
Bảng 3.4: Các thông số tối ưu đo phổ của Canxi.....	47
Bảng 3.5: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của Na đến độ hấp thụ của Canxi. ....	47
Bảng 3.6: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của K đến độ hấp thụ của Canxi. ....	49
Bảng 3.7: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của Mg đến độ hấp thụ của Canxi. ....	50
Bảng 3.8: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của photpho đến độ hấp thụ của Canxi. ....	51
Bảng 3.9: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của $\text{LaCl}_3$ đến độ hấp thụ của Canxi.....	52
Bảng 3.10: Kết quả đo Canxi để dựng đường chuẩn của Canxi. ....	54
Bảng 3.11: Kết quả phân tích mẫu chuẩn Canxi nồng độ 0,25 mg/l trong nền $\text{LaCl}_3$ 0,1%.....	55
Bảng 3.12: Kết quả phân tích mẫu chuẩn Canxi.....	56
Bảng 3.13: Kết quả đánh giá độ lặp lại của phép đo Canxi. ....	57
Bảng 3.14: Kết quả phân tích hàm lượng Canxi trong huyết thanh nhóm đối chứng. ....	58
Bảng 3.15: Kết quả phân tích hàm lượng Canxi trong huyết thanh nhóm bệnh còi xương. ....	60

**DANH MỤC CÁC HÌNH**

Hình 1.1: Sinh bệnh học của còi xương và nhuyễn xương do thiếu Canxi. ....	9
Hình 1.2: Hậu quả của thiếu Vitamin D ở người mẹ, theo Elidrissy.....	12
Hình 1.3: Bệnh sinh của bệnh còi xương dinh dưỡng ở trẻ. ....	15
Hình 2.1: Đường chuẩn phổ hấp thụ AAS .....	40
Hình 2.2: Sơ đồ cấu tạo nguyên tắc máy đo phổ hấp thụ nguyên tử. ....	42
Hình 3.1 : Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của Natri đến độ hấp thụ của Canxi. ....	48
Hình 3.2 : Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của K đến độ hấp thụ của Canxi. ....	49
Hình 3.3: Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của Mg đến độ hấp thụ của Canxi.....	50
Hình 3.4: Đồ thị ảnh hưởng của $\text{LaCl}_3$ đến phép đo Canxi. ....	53
Hình 3.5: Đồ thị biểu diễn đường chuẩn của Canxi.....	54

**DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT**

1. 25 - OH -D<sub>3</sub> : 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> .
2. 1,25 - (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> : 1,25-dihydroxyl vitamin D<sub>3</sub> .
3. AAS : Atomic Absorption Spectrometry.
4. ICP-MS : Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry.
5. F-AAS : Atomic Absorption Spectrometry.
6. HCL : Hollow Cathode Lamp.
7. EDL : Electrodeless Discharge Lamp.
8. EPMA : Electron probe micro-analyzer.
9. EDTA : Ethylendiamin teraaxetic Acid.

## MỞ ĐẦU

Bệnh còi xương ở trẻ em có liên quan mật thiết với rối loạn chuyển hóa Canxi... Bệnh còi xương thường gặp ở trẻ nhỏ từ 6 - 36 tháng tuổi, vì đây là thời kỳ mà hệ thống xương đang phát triển mạnh. Nguyên nhân còi xương ở trẻ là do thiếu Vitamin D làm cho cơ thể không hấp thu đủ lượng Canxi ở ruột và thiếu Canxi trong máu. Do hiện tượng thiếu Canxi trong máu cho nên cơ thể có sự tự điều chỉnh bằng cách huy động Canxi từ xương đưa vào máu làm cho xương thiếu Canxi gây nên còi xương, loãng xương.

Mắc bệnh còi xương trẻ sẽ chậm lớn, chậm biết đi, chậm mọc răng, đầu xương bẹp, xương ngực nhô ra, trẻ quấy khóc, thóp lâu kín, rụng tóc sau gáy, ngủ không yên giấc, hay ra mồ hôi ở vùng đầu khi ngủ kể cả mùa đông. Nếu nặng thì xương chậu biến dạng, hẹp lại, chân vòng kiềng hoặc hình chữ X. Trẻ em quá bụ bẫm cũng có thể còi xương vì nhu cầu Canxi cao hơn trẻ bình thường.

Nguyên nhân bệnh còi xương chủ yếu do thiếu Vitamin D và chế độ ăn thiếu Canxi. Vitamin D giúp tăng cường hấp thu Canxi. Canxi là thành phần cấu tạo xương. Khi thiếu Canxi xương sẽ xốp, mô liên kết biến đổi, quá trình này xảy ra ở trẻ em gây nên tình trạng còi xương.

Trên thế giới tỷ lệ trẻ em bị mắc bệnh còi xương vẫn rất cao đặc biệt là ở các nước nghèo và kém phát triển.

Ở Việt Nam, tỷ lệ này cũng còn khá cao đặc biệt trẻ em ở các tỉnh miền núi, hải đảo, các vùng khó khăn... Một nghiên cứu gần đây được tiến hành trên 1263 trẻ em từ 1 – 36 tháng tuổi ở 9 xã thuộc 6 tỉnh miền núi phía Bắc bao gồm Thái Nguyên, Hà Giang, Lạng Sơn, Sơn La, Hòa Bình và Lai Châu, với các dân tộc đặc thù cho khu vực này là Sán Dìu, Mông, Tày, Thái, Giáy, Mường, Kinh, nhằm xác định tỷ lệ mắc bệnh còi xương ở trẻ em. Phương pháp nghiên cứu điều tra ngang, chọn ngẫu nhiên. Kết quả: Tỷ lệ còi xương ở trẻ em 1- 36 tháng tuổi ở