

直接测汞仪法测定尿中汞国标方法的研制

尹江伟¹, 刘祖强¹, 闫慧芳², 朱志良¹

1. 深圳市宝安区疾病预防控制中心, 广东 深圳 518101; 2. 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所

摘要: **目的** 建立一种快速简便、能满足生物监测国家标准要求的尿中汞的测定方法。 **方法** 采用直接测汞仪对尿中汞的测定情况进行考察和试验。 **结果** 尿中汞含量在 1.6~100 $\mu\text{g/L}$ 时测得的峰面积和汞浓度之间呈良好的线性关系, 相关系数 >0.999 。方法检出限为 0.5 $\mu\text{g/L}$, 方法定量下限为 1.6 $\mu\text{g/L}$ 。批间、批内测定的相对标准偏差均小于 5%。对 10、30、60 $\mu\text{g/L}$ 三个浓度水平的尿样, 加入与原浓度相近的汞浓度的加标回收率为 91.6%~99.9%, 对有证参考物质的测定及与冷原子吸收法的比对结果满意。 **结论** 直接测汞仪法作为一种简单、快速的测定方法能满足生物材料中化学物质测定方法的要求, 可以用于职业接触者尿中汞的测定。

关键词: 尿; 汞; 直接测汞仪; 标准方法

中图分类号: R446.12 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2018)04-0505-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.04.034

National standard method of determining mercury in urine by a direct mercury analyzer

YIN Jiang-wei*, LIU Zu-qiang, YAN Hui-fang, ZHU Zhi-liang

* Baoan District Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen, Guangdong 518101, China

Abstract: **Objective** To establish a rapid and simple method for the determination of mercury in urine, which can meet the requirements of national standard of biological monitoring. **Method** A direct mercury analyzer was used to investigate and test the determination of mercury in urine. **Results** There was a good linear relationship between the peak area and mercury concentration when the mercury concentration in urine ranged between 1.6 $\mu\text{g/L}$ and 100 $\mu\text{g/L}$, and the correlation coefficient was above 0.999. The detection limit and quantitative limit of the method were 0.5 $\mu\text{g/L}$ and 1.6 $\mu\text{g/L}$ respectively. The inter-batch and intra-batch relative standard deviations (RSDs) were both less than 5%. Spiking three concentration levels of mercury (including 10 $\mu\text{g/L}$, 30 $\mu\text{g/L}$ and 60 $\mu\text{g/L}$) in urine samples, the recoveries of standard addition were 91.6%~99.9%. The results were consistent with reference material certificates and cold atomic absorption method result. **Conclusions** This direct mercury analyzer method, as a simple and rapid method for the determination of mercury, can meet the requirements of detection method of chemical substance in biomaterial; and hence, it can be used for the determination of mercury in urine of occupational exposure.

Key words: urine; mercury; direct mercury analyzer; standard method

目前监测汞的接触生物标志物主要为血汞、尿汞和发汞,尿汞可作为评价近期金属汞蒸气和无机汞化合物接触量的指标。尿汞常在汞及其化合物吸收入机体数日后见增加,1~3 个月达峰值;停止汞接触后,尿汞排出增加仍可持续 6~8 月,且与汞在肾中的蓄积量相关,不受体内甲基汞水平的影响^[1]。我国职业接触汞劳动者尿总汞生物限值为 35 $\mu\text{g/g Cr}$ ^[2]。尿中汞测定方法现在使用较多的有原子荧光法^[3-5]、直接测汞仪法^[6-8]、ICP-MS 法^[9]、冷原子吸收光谱法^[10]。我国现有的标准方法有:冷原子吸收光谱法(酸性氯化亚

锡还原、碱性氯化亚锡还原)^[11-12]、双硫脲萃取分光光度法^[13],方法比较陈旧,亟待重新制/修订。直接测汞仪法作为一种样品可以直接上机测定的分析技术,多年前已被美国环境保护局用于水质和土壤中汞的测定(EPA7473^[14])。该仪器目前国内不少单位已经使用,研究其作为国家标准方法已经有了一定的基础。本实验室在已有研究的基础上对该方法再次进行了详细的优化和考察,并按照 GBZ/T 210.5-2008^[15]相关要求对建立的方法进行了考察。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 DMA-80 直接测汞仪(意大利,麦尔斯通);玻璃瓶(100 ml,使用前用 20%硝酸溶液浸泡过夜);汞标准储备溶液:中国计量科学研究院,GBW

基金项目:深圳市宝安区科技局立项课题(2015301);深圳市宝安区职业病防治重点专科资助

作者简介:尹江伟(1969-),男,河南长葛人,硕士,主任技师,主要从事理化检测工作。

(E)08617,1.0 mg/ml;硝酸,优级纯。

1.2 方法

1.2.1 仪器条件 干燥:250 ℃,2 min;灰化: 2 min 内升温至 650 ℃,保持 2 min;还原管工作温度: 650 ℃;金汞齐吸收温度:170 ℃;金汞齐释放温度和时间:900 ℃,12 s;检测波长:253.7 nm。进样量 100 μl。

1.2.2 样品的采集 采集工作班前尿 100 ml 于玻璃瓶中,比重合格后,加入硝酸 1 ml,4 ℃条件下保存。

1.2.3 标准曲线的制作 将汞标准储备液用水逐级稀释,并配制 10~100 μg/L 的汞标准系列,测定峰面积,以浓度对峰面积绘制标准曲线。

1.3 统计学分析 利用 Epi Data 3.1 建立数据库,运用 SAS 9.1 对数据进行统计分析。定量资料服从正态分布,采用均数和标准差进行统计描述,两种测定方法的测定结果之间比较采用配对 *t* 检验进行统计分析,检验水准 α=0.05(双侧)。

2 结果

2.1 线性范围 汞浓度在 0~100 μg/L 时,峰面积与汞浓度呈线性关系良好,相关系数 0.999 1~0.999 6,斜率 0.004 87~0.005 08,截距 0.000 28~0.007 28;当汞浓度到 120 μg/L 时,拟合曲线发生弯曲,相关系数变差。最终选择 100 μg/L 为标准曲线的上限。

2.2 检出限 配制浓度为 1.5 μg/L 的尿样,平行测定 11 次,以其 3 倍标准偏差计算检出限为 0.5 μg/L;以峰面积 10 倍标准偏差得到方法的定量下限为 1.6 μg/L。

2.3 精密度 配制 10.0、40.0、80.0 μg/L 的尿样,分别于 1 d 内测定 6 次,得批内精密度,又分别在 5 个不同日期内测定 5 次,共 6 次数据,计算批间精密度,结果见表 1。批间、批内重复测定的相对标准偏差(relative standard deviations, RSD)均小于 5%,满足 GBZ/T 210.5 要求的小于 10%的标准。

表 1 尿中汞测定的精密度试验

浓度(μg/L)	批内 RSD(%)	批间 RSD(%)
10.0	1.56	1.51
40.0	0.53	2.18
80.0	0.89	3.57

2.4 准确度 对方法的准确度采用了 3 种方法进行验证。

2.4.1 加标回收试验 分别取 10、30、60 μg/L 三个

浓度水平的尿样,分别向其中加入适量汞标准溶液,使其加标量与原浓度相近。按照建立的方法分别测定本底值和加标后的值,计算回收率。加标回收率为 91.6%~99.9%^[7],满足标准研制的要求。

2.4.2 对有证参考物质的测定结果的比对 用建立的方法分别对中国疾控中心职业卫生所生产的冻干人尿汞成份分析质量控制样品 ZK020-1 和 ZK020-2 及美国商务部生产的尿中有毒元素标准参考物质 2670a 中高浓度水平的汞含量进行了测定,结果见表 2。结果显示,对三个批次的冻干人尿汞成份分析质量控制样品的测定结果均在证书给出的不确定度范围内。对美国生产的尿中有毒元素标准参考物质的测定结果虽然没有落在给定的不确定度范围内,但测定值与证书值的相对偏差在 1.5%以内,也完全能满足生物监测准确度的要求。

表 2 对有证标准参考物质/质控品测定结果

编号	ZK020-1	ZK020-1	ZK020-2	2670a
批号	805	507	508	高浓度水平
证书值(μg/L, $\bar{x} \pm s$)	33.0±3	32.5±4.3	45.5±5.4	95.1±0.98
测定次数	9	3	3	6
测定值(μg/L, $\bar{x} \pm s$)	32.0±0.8	33.8±1.4	50.5±0.1	93.9±2.8

2.4.3 不同方法之间的比对 选取了实际接触汞的病人尿样、加标尿样及质控样共 6 个样品,分别采用冷原子吸收法和直接测汞仪法对样品测定,结果见表 3。配对 *t* 检验显示,两种检测方法测定尿中汞的结果之间差异无统计学意义(*P*>0.05)。

表 3 直接测汞仪法和冷原子吸收法测定尿中汞结果

方法	测定结果(μg/L)						<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6		
直接测汞仪法	36.96	33.99	33.49	46.97	231.88	330.96	0.1555	0.8825
冷原子吸收法	33.60	33.71	31.62	42.79	240.51	330.26		

2.5 干扰试验 配制 10.00 μg/L 尿样,一组加驱汞剂二巯丙磺酸钠 1.25 g/L,一组不加。两组测定浓度结果的精密度和平均值差异均无统计学意义,表明驱汞剂二巯丙磺酸钠对本方法无干扰。10 mg/L 的 As、K、Na、Ca、B、Cd、Mn、Fe、Zn、Cr 不存在干扰。5 mg/L 的 Se、Sb、Al 不存在干扰。

2.6 样品的稳定性 分别配制 10、40、80 μg/L 水平的模拟尿,每 100 ml 尿样中加入 1 ml 硝酸后,装于 100 ml 玻璃瓶中,4 ℃冰箱保存。以当天测值为基准,比较放置不同时间后测定结果的下降率。结果表明,

放置 14 d 后测定,尿中汞的下降率在 3.4%~5.4%,下降率小于 10%,可以认为样品在 14 d 的时间内保持稳定。

3 讨论

3.1 标准曲线和工作曲线的差别 分别以水和空白尿样配制浓度为 0.0、2.0、10.0、40.0、70.0、100.0 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列,按照建立的方法于测汞仪上测定,分别绘制标准曲线和工作曲线。同时对 10、30、60 $\mu\text{g/L}$ 水平的 3 个尿样,加入与本底相近的汞含量,分别用工作曲线与标准曲线分别计算汞的加标回收率。

得到的汞的标准曲线为: $A = 0.00508C + 0.00276$, $r = 0.9996$, 工作曲线为: $A = 0.00517C + 0.00261$, $r = 0.9993$ 。采用标准曲线法和工作曲线法对三个浓度的加标回收率分别为 91.6% 和 89.8%、92.0% 和 90.3%、99.9% 和 98.6%。

工作曲线与标准曲线斜率与截距差别都不大,相关系数都大于 0.999;对尿样的加标回收实验表明,采用标准曲线计算的加标回收率稍微高于使用工作曲线的回收率,且更接近 100%,但两种计算方法差别不大。考虑到实际工作的方便,选择标准曲线作为定量依据。

3.2 仪器状态的影响 实验过程中发现,标准曲线线性好坏与仪器的金汞齐与还原管的性能是密切相关。若线性关系不好时,应考虑更换新配件。

3.3 样品在存放过程中的沉积和吸附 冷藏后的尿样并非是一均匀尿样,底部的沉淀物中会含有更多的汞。试验中发现,不进行振摇而直接测定尿样上清液,则结果普遍比摇匀后测定的结果要低,测定结果的 RSD 也明显变大。提示在测定前轻摇动混匀,同时又要避免气泡产生。同时考虑到器皿对汞的吸附作用,在检测的前后应尽量减少对样品的转移,特别是避免使用塑料管。样品加硝酸保存于 100 ml 塑料瓶中只能保存 5 d,如果采用 15 ml 的塑料管保存则只能保存 2 d。这种情况提示,塑料器皿对汞有吸附,且比表面积越大,吸附越严重。

3.4 对不同形态的汞的测定结果 分别将乙基汞标准物质和分析纯的碘化汞添加于尿样中,分别代表尿中的有机汞和无机汞进行试验,对 100 $\mu\text{g/L}$ 浓度水平

的乙基汞和碘化汞的加标回收率分别为 98.8% 和 104.3%,测定 3 次的 RSD 为 1.2% 和 1.3%。说明该方法完全可以满足有机汞和无机汞同时检测的需要,检测结果为尿中的总汞。

通过考察发现,直接测汞仪法测定尿中汞,具有方法简单、快速,精密度、准确度好等优点,各项技术指标满足 GBZ/T 210.5-2008 生物监测标准方法研制的要求,可以应用于职业接触人员中尿中汞的测定。

参考文献

- [1] 孙冉,闫慧芳. 汞生物监测指标及检测方法研究进展[J]. 中国职业医学,2012,39(2):170-171,174.
- [2] 中华人民共和国卫生部. WS/T 265-2006. 汞的职业接触限值[S]. 北京:人民卫生出版社,2007:1-2.
- [3] 姜枫,蒋莹,王军明. 职业接触者尿中汞微波消解-原子荧光法测定[J]. 中国公共卫生,2015,31(12):1629-1631.
- [4] 张裕曾,郑丹,何晓宏,等. 尿中汞的原子荧光光谱测定方法[J]. 工业卫生与职业病,2010,36(4):246-249.
- [5] 耿琪,秦文华,李宏斌,等. 原子荧光法测定尿汞含量的研究[J]. 工业卫生与职业病,2011,37(4):245-246.
- [6] 刘祖强,邵鹏,白洁冰,等. 尿中汞的热分解氧化原子吸收法[J]. 职业与健康,2012,28(21):2616-2617,2620.
- [7] 刘祖强,尹江伟,闫慧芳,等. 直接测汞仪法测定职业接触者尿中汞[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(14):1993-1994.
- [8] 龚燕,凌霞. 职业测汞仪测定尿中汞[J]. 环境与职业医学,2011,28(8):501-502.
- [9] 刘双德,史欣媚,张金环. 同时快速测定尿中汞和砷含量的碰撞-反应池电感耦合等离子体质谱法[J]. 医学动物防制,2013,29(8):939-941.
- [10] 陈惠珠. 微波消解-冷原子吸收法测定尿中汞[J]. 微量元素与健康研究,2011,28(1):47-48.
- [11] 中华人民共和国卫生部. WS/T 25-1996 尿中汞的冷原子吸收光谱测定方法(一)碱性氯化亚锡还原法[S]. 北京:中国标准出版社,1997:1-3.
- [12] 中华人民共和国卫生部. WS/T 26-1996 尿中汞的冷原子吸收光谱测定方法(二)酸性氯化亚锡还原法[S]. 北京:中国标准出版社,1997:1-3.
- [13] 中华人民共和国卫生部. WS/T 24-1996 尿中汞的双硫脲萃取分光光度测定方法[S]. 北京:中国标准出版社,1997:1-3.
- [14] US. Environmental Protection Agency. Mercury in solid and solutions by thermal decomposition, amalgamation and atomic absorption spectrophotometry [EB/OL]. (2007-2-15) [2016-10-26]. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/7473.pdf>.
- [15] 中华人民共和国卫生部. GBZ/T 210.5-2008 职业卫生标准制定指南第 5 部分:生物材料中化学物质测定方法[S]. 北京:人民卫生出版社,2009:1-6.

收稿日期:2016-12-22