

原子荧光光谱法测定尿锑浓度

覃利梅, 李燕, 李荣娟, 苏旭

摘要: [目的] 建立原子荧光光谱法测定尿锑浓度的检测方法。[方法] 尿样经混合酸消化后, 加入硫脲和抗坏血酸使5价锑还原为3价锑, 再加入硼氢化钾还原生成锑化氢, 由氩气载入石英原子化器中分解为原子态锑, 在锑空心阴极灯发射光的激发下产生原子荧光, 荧光强度与标准系列比较定量。[结果] 尿锑浓度为0.0~10.0 μg/L的线性关系较好, 相关系数为0.999 4~0.999 9; 最低检出限为0.06 μg/L; 相对标准偏差为1.9%~2.4%; 平均加标回收率为99.7%。[结论] 建立的湿法消解-氢化物发生-原子荧光光谱法测定尿锑实用、快速、准确、灵敏度高、基体干扰少, 便于推广运用, 尤其适用于大批量人群职业健康体检尿锑的检测。

关键词: 湿法消解; 原子荧光光谱法; 尿锑; 灵敏度; 准确度

Determination of Antimony in Urine by Atomic Fluorescence Spectrometric Method QIN Li-mei, LI Yan, LI Rong-juan, SU Xu (Occupation Health Inspection Assessment Organization, Guangxi Occupational Disease Prevention Research Institute, Guangxi 530021, China) · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To develop an atomic fluorescence spectrometric method for detecting the concentration of antimony in urine. [Methods] Urine samples were digested using mixed acids and treated with thiourea and ascorbic acid to reduce pentavalent antimony to trivalent antimony. Then potassium borohydride was added to generate stibine which was afterwards decomposed to atomic antimony in quartz furnace atomizer using argon gas. Fluorescence was excited by an incident light from a hollow cathode lamp, and fluorescence intensity was compared with relevant standards to quantify antimony. [Results] A good linear relationship for antimony was found in the range of 0.0-10.0 μg/L, and the correlation coefficients were 0.999 4-0.999 9. The lowest limit of detection was 0.06 μg/L; the relative standard deviations were 1.9%-2.4%; the average recovery was 99.7%. [Conclusion] The wet digestion hydride generation atomic fluorescence spectrometric method for determination of urine antimony is practical, fast, accurate, highly sensitive, less interfered and easy to promote. Therefore, it is recommended for mass detection of urine antimony in occupational health surveillance.

Key Words: wet digestion; atomic fluorescence spectrometry; urine antimony; sensitivity; accuracy

锑广泛应用于生产阻燃剂、蓄电池及滑动轴承等领域, 接触锑产业的人群较为广泛。锑主要通过肺组织吸入及皮肤吸收进入人体, 职业接触到锑化合物会引起皮炎、角膜炎(锑斑)、结膜炎及胃炎等, 动物实验证明锑具有致癌性。近年来锑中毒在国内外受到越来越多的关注。

尿锑作为接触指标, 对判断锑的过度接触, 具有重要意义, 在国内^[1]和国外^[2]都有过报道。我国目前还未制定尿锑检测的国家标准方法和地方标准方法, 处于方法摸索阶段。近年来文献报道尿锑的测定方法多为原子荧光光谱法和石墨炉原子吸收光谱法^[3]。

而大多采用的微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法^[3-6], 耗时较长, 消化罐处理烦琐, 不适合大批样品的前处理。广西是锑资源丰富的省区, 锑接触者较多, 职业接触者进行尿锑检测可以更好地保护职业接触人群健康, 减少锑暴露水平, 并为急、慢性锑中毒的诊断提供科学依据。本研究拟依据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》^[7]对尿中锑的湿法消解氢化物发生-原子荧光光谱法进行规范性研究和验证, 主要技术指标有线性范围、检出限、最低检出浓度、准确度、精密度、干扰实验、样品稳定性、现场应用等, 以建立一种快速、准确、简单、易于普及的测定尿锑的检测方法。

1 材料与方法

1.1 仪器

AFS-930 双道原子荧光光度计(北京吉天仪器有

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2015.14319

[基金项目] 广西卫生厅课题“广西人群尿锑正常值与尿锑检测方法的研究”(编号: Z2014238)

[作者简介] 覃利梅(1978—), 女, 学士, 主管技师; 研究方向: 职业卫生检测; E-mail: toqlm@163.com

[作者单位] 广西壮族自治区职业病防治研究院职业卫生检测评价所, 广西 530021

限公司); 铈空心阴极灯, 型号 HAF-2(北京有色金属研究总院); Simplicity Aquelix 型艾威超纯水机。

1.2 试剂

①铈标准储备液 100.0 $\mu\text{g/mL}$ (由中国计量科学研究院提供), 用 1% 盐酸稀释成 100.0 $\mu\text{g/L}$ 标准应用液。
②消化液: 混合酸(硝酸: 硫酸: 高氯酸 5: 3: 1 混合), 实验用酸均为优级纯, 避光保存; ③预还原剂: 硫脲(广州新建精细化工厂, 分析纯)-抗坏血酸(国药集团化学试剂有限公司, 分析纯)溶液, 称取 5.0 g 硫脲和 5.0 g 抗坏血酸, 加 80 mL 纯水溶解, 稀释至 100 mL 备用。4℃ 冰箱可保存 1 个月; ④还原剂: 称取 1.0 g 氢氧化钠(广东西陇化工厂)用去离子水溶解, 再加 3.0 g 硼氢化钾溶解(国药集团化学试剂有限公司, 分析纯), 并用超纯水稀释至 200 mL, 随配随用; ⑤载流: 5% 盐酸; ⑥水: 实验用水为超纯水。

1.3 仪器操作条件

波长: 217.6 nm, 光电倍增管负高压 300 V; 灯电流 60 mA, 辅阴极 30 mA; 原子化器温度 200℃; 载气流量 400 mL/min; 原子化器高度 8 mm; 屏蔽气流量 800 mL/min; 读数时间 7 s; 延时时间 1.5 s。测量方式: 标准曲线法; 读数方法: 峰面积; 进样体积为 1.0 mL。

1.4 尿样的采集和保存

用带盖子的聚乙烯塑料瓶收集一次尿液 50 mL 尽快测量比重, 然后加硝酸使其酸浓度为 1% (V/V), 保存于 4℃ 冰箱中。

1.5 实验容器

本实验所用的聚乙烯瓶和玻璃容器均用 20% 硝酸浸泡过夜, 用自来水冲净后去离子水淋洗晾干备用。

1.6 样品处理

将尿样从冰箱中取出, 静置并恢复到室温后, 充分摇匀。吸取 1.0 mL 的尿样于三角烧瓶中, 加消化液 1.0 mL, 在电炉上加热至近干(冒白烟), 溶液呈无色透明, 取出放置冷却至室温, 用 5% 盐酸转移至 10 mL 比色管中, 加 2.0 mL 预还原剂, 用 5% 盐酸定容至 10 mL, 混匀, 放置 20 min 后上机测定。

1.7 标准工作曲线的配制

取 100.0 $\mu\text{g/L}$ 铈标准应用液 0.0、0.1、0.2、0.4、0.8、1.0 mL 分别于三角烧瓶中, 操作步骤同样品处理。得到标准曲线系列为 0.00、1.00、2.00、4.00、8.00、10.00 $\mu\text{g/L}$ 。

1.8 计算尿样换算成标准比重下浓度的校正系数

$K = (1.020 - 1.000) / (\text{实测尿样比重} - 1.000)$, 按下

式计算尿中铈浓度: $C = cFK$ 。式中 C: 尿中铈的浓度 ($\mu\text{g/L}$); c: 由标准曲线查得的铈浓度 ($\mu\text{g/L}$); F: 样品稀释倍数; K: 尿样换算成标准比重下浓度校正系数。

2 结果

2.1 方法的线性范围与检出限

标准同尿样相同处理, 线性范围为 0~10.0 $\mu\text{g/L}$, 相关系数为 0.999 4~0.999 9。本法检出限按试样空白溶液重复测定 11 次所得的标准差的 3 倍计算, 检出限为 0.06 $\mu\text{g/L}$, 尿样的最低检出浓度为 0.6 $\mu\text{g/L}$ 。

2.2 样品加标回收率及精密度试验

在正常人尿样中加入 100.0 $\mu\text{g/L}$ 铈标准应用液 0.2、0.4、0.8 mL 分别于三角烧瓶中, 操作步骤同样品处理, 其加标浓度分别为 2.0、4.0、8.0 $\mu\text{g/L}$, 每个浓度做 6 个平行样, 计算出回收率和相对标准偏差(RSD), 低、中、高 3 个浓度的平均加标回收率为 99.7%, 精密度为 1.9%~2.4%, 见表 1。

表 1 加标回收率试验结果

加标值 ($\mu\text{g/L}$)	实测值($\mu\text{g/L}$)						平均加标 回收率(%)	RSD (%)
2.0	1.98	2.01	1.91	1.89	1.96	1.98	97.8	2.4
4.0	3.89	4.03	4.04	4.05	4.01	4.19	100.9	2.4
8.0	7.85	8.19	8.24	8.06	7.95	7.96	100.5	1.9

2.3 样品稳定性试验

取几份新鲜铈接触者尿样混匀制配成混合样, 加硝酸使其酸浓度为 1% (V/V), 存放在 4℃ 冰箱备用。样品平均分为 4 组, 于收集尿样的第 1、3、7、14 天各分析测定 1 组, 每组测定 6 个平行样, 测定结果均值分别为 31.11、30.62、29.02、29.23 $\mu\text{g/L}$, 测定尿铈结果与第 1 天的尿铈结果计算各组的相对误差均 <10%, 表明样品至少可于 4℃ 条件保存 2 周。

2.4 干扰试验

对常见的共存离子进行干扰试验, 在一定量铈的标准溶液中, 测定其荧光强度, 加入 100 mg/L 下列干扰离子钙离子(Ca^{2+})、汞离子(Hg^{2+})、镉离子(Cd^{2+})、砷离子(As^{3+})、钾离子(K^{+})、钠离子(Na^{+})、镁离子(Mg^{2+})、锌离子(Zn^{2+})、锰离子(Mn^{2+})、铬离子(Cr^{3+}), 其荧光强度相对误差均于 10% 以内。测定时加入具有掩蔽剂作用的硫脲-抗坏血酸处理过的尿样, 共存干扰离子基本上不超过允许量, 可以消除对于测定尿铈的干扰。

2.5 方法应用

对广西河池某冶炼厂职业接触锑人员班前班后采样共97人次,进行尿锑检测,结果平均值为29.27 $\mu\text{g/L}$,非职业锑接触人员20人,尿锑检测的结果平均值为2.18 $\mu\text{g/L}$,采用 t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 讨论

按照《生物材料分析方法的研制准则》的要求进行实验,除了仪器条件,样品的消化液、预还原剂浓度、还原剂浓度、酸度等因素对测定也有很大的影响。

灯电流和负高压与灵敏度呈正相关,是影响灵敏度最大的因素,灯电流大,负高压大,荧光强度会增大,但噪声也过大,灯电流低荧光强度值低灵敏度达不到要求,测锑灯电流50~80 mA为宜,控制标准曲线最高点的荧光强度约2000,选择灯电流为60 mA,负高压采用300 V。原子荧光光度计的载气流量一般在300~600 mL/min,300 mL/min荧光值很高但精密度不好,500~600 mL/min荧光值明显下降,实验选择400 mL/min,使仪器响应值在较为合适的范围。

微波消解仪法是样品处理的新技术,但操作繁琐且时间长,难以满足大批量的样品消解。湿消解可以大批量快速完成样品的处理,实验对尿样采用混合酸(硝酸:硫酸:高氯酸5:3:1混合)、硝酸:高氯酸(4:1)、硝酸:盐酸(1:1)、硝酸分别在电热板上进行消化。混合酸中加硫酸提高了消化温度,消化过程中不需再补加硝酸进行消化,具有消化彻底且不易碳化;硝酸:高氯酸(4:1)消化尿样能使其消化完全但很容易烧干碳化;硝酸:盐酸(1:1)消化尿样不能使尿样溶液呈无色透明,且很快烧干碳化。

由于消解后的样品中大多数锡以高价态 Sb^{+5} 存在,直接用硼氢化钾还原不完全,容易造成结果偏低,采用50.0 g/L硫脲-50.0 g/L抗坏血酸为预还原剂,试验加入不同量的预还原剂0.5、1.0、1.5、2.0 mL,表明加入预还原剂量为2.0 mL能使信号峰形好,且较稳定,故选择预还原剂加入量为2.0 mL。

硼氢化钾溶液直接影响锑化氢和氢气的生成,与灵敏度呈正比。硼氢化钾浓度低时,还原能力不好,没有信号、信号延迟或者信号的峰形图异常会使样品结果偏低和不平行^[3]。实验用不同浓度(1.0、5.0、10.0、15.0、20.0 g/L)的硼氢化钾作还原剂,结果表明高

浓度的硼氢化钾使荧光强度值增大,1.0、5.0、10.0 g/L的硼氢化钾浓度使荧光强度较低而且不稳定,线性回归 <0.999 ;随硼氢化钾浓度增大,荧光强度值逐渐增大;当硼氢化钾浓度为15.0~20.0 g/L时荧光强度值基本恒定,本法选用浓度为15.0 g/L硼氢化钾溶液。硼氢化钾水溶液的稳定性较差,必须加入适量氢氧化钠以提高其稳定性^[8],本实验选用氢氧化钠浓度为5.0 g/L。

原子荧光测定时载流多用盐酸,盐酸介质中锑的响应好且酸度范围很宽,实验酸度选择在1%~10%之间荧光强度的变化不大,酸度 $>10\%$ 会对仪器产生损害,适当的酸度可以增加金属的溶解度,从而较好地克服某些金属的干扰,故选择5%的盐酸为载流。

湿法消解氢化物发生-原子荧光光谱法测定尿中锑灵敏度高、操作简单快速、准确可靠、稳定性好,便于推广应用,适合大批量尿锑检测,是职业健康体检尿锑检测较为理想的分析方法。

•作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] 李小萍,葛宪民,梁德新,等.尿锑作为职业接触三氧化二锑生物监测指标的研究[J].中国职业医学,2008,35(1): 67-68.
- [2] Gebel T, Claussen K, Dunkelberg H. Human biomonitoring of antimony[J]. Int Arch Occup Environ Health, 1998, 71(3): 221-224.
- [3] 朱晓超.微波消解-原子荧光光谱法测定尿中锑的方法研究[J].实用预防医学,2013,20(4): 490-491.
- [4] 张静,边疆,郭淑英.职业患者尿液中锑的测定法研究[J].中国实用医药,2009,4(2): 221-222.
- [5] 段景春,边疆,郭淑英.原子荧光法测定职业病患者尿液中砷和锑[J].中国实用医药,2010,5(11): 268-269.
- [6] 金静,边疆,郭淑英.职业病人尿液中锑的原子荧光光谱测定法[J].中国卫生检验杂志,2008,18(6): 1062-1063.
- [7] 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.
- [8] 石杰,郭玮,秦文华,等.尿中锑的原子荧光法测定[J].中国公共卫生,2007,23(1): 123-124.

(收稿日期:2014-04-24)

(英文编辑:汪源;编辑:张晶;校对:张晶)