

酸性溴酸钾/溴化钾消解原子荧光法测定尿汞

方兰云, 王立, 姚浚平

摘要: [目的] 研究不同的尿样消解方法, 寻求一种快速、准确、高通量的适用于样品量大的职业性人群尿汞测定方法。[方法] 采用微波消解法、低温高锰酸钾氧化法及酸性溴酸钾/溴化钾氧化法在一定的条件下处理尿样, 比较 3 种方法的准确度、精密度、灵敏度、回收率以及检测时间。[结果] 微波消解法与酸性溴酸钾/溴化钾氧化法测定尿汞含量吻合。两种方法相对标准偏差分别为 2.4%、1.7%; 加标回收率分别为 101.5%~112.2% 及 105.5%~110.0%; 样品前处理耗时分别为 6 h、15 min。低温高锰酸钾氧化法测定尿汞结果偏高, 加标回收率约为 130%。采用酸性溴酸钾/溴化钾氧化法测定冻干人尿汞质控样品, 结果与标准值吻合性良好。[结论] 本研究比较 3 种尿汞样品消解方法, 结果表明以酸性溴酸钾/溴化钾氧化法较为新颖、准确、高效、快速, 适合大批量职业性人群尿汞的简便快速测定。

关键词: 溴酸钾; 溴化钾; 原子荧光; 尿汞

Acidic Potassium Bromate/Potassium Bromide Digestion System for Determination of Total Mercury in Urine Using Atomic Fluorescence Spectrometry FANG Lan-yun, WANG Li, YAO Xun-ping (Ningbo Municipal Center for Disease Control and Prevention, Ningbo, Zhejiang 315010, China) · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To find a rapid, precise, and high-throughput method for the determination of total urine mercury levels of occupational population by comparing several pretreatment methods of urine samples. [Methods] Three pretreatment methods including microwave digestion, constant-temperature potassium permanganate oxidation, and acidic potassium bromate-potassium bromide (KBrO₃/KBr) digestion system were applied under optimal conditions. Parameters of method performance such as accuracy, precision, sensitivity, recovery, and time for detection were compared. [Results] The results of microwave digestion and KBrO₃/KBr digestion system were in excellent agreement. The spiked recovery rates of the two methods were in the range of 101.5%-112.2% and 105.5%-110.0%, with relative standard deviations of 2.4% and 1.7%, respectively. The pretreatment time of the two methods was 6 h and 15 min, respectively. In addition, the results by constant-temperature potassium permanganate oxidation method were on the higher side with spiked recovery rate about 130%. Certified reference samples of lyophilized urine were used to validate the KBrO₃/KBr digestion method and the results were in good agreement with the reference values. [Conclusion] Acidic KBrO₃/KBr digestion method is precise, efficient and rapid for the determination of total mercury in batches of urine samples of occupational population.

Key Words: potassium bromate; potassium bromide; atomic fluorescence spectrometer; mercury in urine

汞对于动、植物的毒性已长时间被人们熟知。大气、水质、土壤中的汞通过呼吸道或食物链蓄积到人体, 对人的神经系统、肝脏、肾脏会造成伤害。人体内的汞主要通过肾脏随尿液排出体外, 尿汞含量的测定可作为汞接触者的主要参考指标^[1]。尿汞测定的国家标准方法有酸性氯化亚锡还原法和碱性氯化亚锡还原法, 这两种方法使用高锰酸钾处理尿样, 氯化亚锡作为还原剂, 采用测汞仪完成测定。测汞仪在很多检验机构都濒临淘汰, 此标准方法急需更新。本研究拟采用强还原剂硼氢化钾替代氯化亚锡, 利用原子荧光光谱仪测定尿汞。研究 3 种不同消解尿样的方法, 包括微波消解法、低温高锰酸钾氧化法及

酸性溴酸钾/溴化钾氧化法, 探讨适用于大批量职业性人群尿汞样品快速准确、简便易行的测定方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

实验用水均为由 millipore 水处理系统(美国 Millipore 公司)处理而得的超纯水, 达到 GB/T 6682—2008^[2]规定的二级水标准。所用玻璃器皿及自动进样器皿均经硝酸(体积比 1:4)浸泡过夜处理, 使用前用超纯水洗净。所用试剂除盐酸羟胺、硼氢化钾及溴化钾为分析纯外, 其他试剂均为优级纯或工作基准试剂。硼氢化钾采用 0.5% 氢氧化钠溶液现用现配。汞标准储备液(1 g/L, 国家标准物质研究中心, 标准物质号为 GBW08617); 汞标准应用液 A(1 μg/mL): 取汞标准储备液(1 g/L)用盐酸溶液[取浓盐酸(36.5%)与水体积比 5:95 稀释]稀释 1 000 倍,

[作者简介] 方兰云(1979—), 女, 博士, 助理研究员; 研究方向: 元素形态分析、液质联用技术; E-mail: fangly@nbcdc.org.cn

[作者单位] 宁波市疾病预防控制中心, 浙江 宁波 315010

并加入 0.05 g 重铬酸钾配制而成；冻干人尿汞成份分析质量控制样品(中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 样品编号 ZK020-1 和 ZK020-2, 样品批号 315/316, 定值日期 2011 年 4 月); ETHOSD 型微波消解仪(意大利 MILESTONE 公司), AFS-830 原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司), 原子荧光光度计专用汞特种空心阴极灯(北京有色金属研究总院)。

1.2 尿样前处理

1.2.1 微波消解法 准确量取 5 mL 尿样于聚四氟乙烯微波消解罐中, 加入 4 mL 硝酸、1 mL 双氧水, 摇匀, 盖上消解罐盖, 置于微波消解仪中消解。微波消解升温程序见表 1。消解完全后, 溶液呈淡黄色或无色, 消解罐直接置于 170℃ 电热板上, 去除消解产生的氮氧化物和过量的硝酸, 待溶液剩余 2 mL 左右, 用超纯水转移到具塞比色管中, 并定容至 25 mL, 待测。同时做试剂空白。

表 1 微波消解升温程序

步骤	持续时间 (min)	功率 (W)	起始温度 (℃)	结束温度 (℃)
1	10	400	25	130
2	10	1000	160	180

1.2.2 低温高锰酸钾氧化法 取 5 mL 尿液, 加入 1 mL 硝酸、2 mL 50 g/L 高锰酸钾溶液, 60℃ 水浴恒温反应 3 h。取出, 加入数滴盐酸羟胺溶液(100 g/L), 使溶液紫色刚好完全褪去。静置, 用超纯水定容至 25 mL, 待测。同时做试剂空白。

1.2.3 酸性溴酸钾/溴化钾氧化法 取 5 mL 尿液, 加入 1 mL 浓盐酸、2 mL 溴酸钾(0.016 65 mol/L KBrO₃)–溴化钾溶液(0.1 mol/L KBr), 室温反应 15 min。取出, 加入数滴盐酸羟胺溶液(100 g/L), 使溴水黄色刚好完全褪去。静置, 用超纯水定容至 25 mL, 待测。同时做试剂空白。

1.3 仪器工作条件

灯电流 20 mA; 光电倍增管负高压 250 mV; 原子化器高度 8 mm; 原子化器温度 200℃; 载气流量 300 mL/min; 屏蔽气流量 1000 mL/min; 读数时间 11 s; 延迟时间 1.5 s。

1.4 原子荧光光度计测定条件

还原剂硼氢化钾浓度为 0.5%(质量浓度); 载流液为(5+95)盐酸溶液。

1.5 汞标准曲线绘制

取 8 只 100 mL 用硝酸浸泡过的洁净容量瓶, 分别加入 0.02、0.05、0.10、0.20、0.40、0.80、1.00、1.50 mL 汞标准应用液 A, 用(5+95)盐酸溶液定容至刻度。此标准系列浓度为 0.20、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、10.00、15.00 μg/L。参照仪器工作条件, 将原子荧光光度计调节到最佳工作状态, 并连续对标准空白管进行测定, 待得到稳定的空白信号, 再对标准系列进行测定, 仪器自动扣除空白后自动绘制标准曲线。

1.6 样品采集与保存

采集工厂工人晨尿, 加入 1% 盐酸保存。

2 结果

2.1 酸性溴酸钾/溴化钾氧化法与微波消解法、低温高锰酸钾氧化法的比较

分别采用以上 3 种不同的前处理方法测定同一尿样的汞

含量, 结果显示微波消解法与酸性溴酸钾/溴化钾氧化法二者测定尿样的结果一致, 同一样品 6 次平行实验测定结果分别为 15.70 μg/L、15.75 μg/L; 相对标准偏差(RSD)分别为 2.40%、1.75%; 低温高锰酸钾氧化法所得结果为 20.15 μg/L, 结果偏高。

比较 3 种方法的加标回收率, 分别往 5 mL 尿样中加入 100 ng 汞标准储备液, 3 种方法分别做 6 次平行加标试验。微波消解法、酸性溴酸钾/溴化钾氧化法、低温高锰酸钾氧化法三者的加标回收率分别为 101.5%~112.2%、105.5%~110.0% 及 129.0%~134.5%。前两种方法加标回收率理想, 低温高锰酸钾氧化法加标回收率仍偏高。造成结果偏高的原因可能是加入的高锰酸钾跟尿液中的大量氯离子反应, 生成的气体对汞蒸气的荧光信号产生正干扰。而酸性溴酸钾/溴化钾氧化法中 Br₂/Br⁻氧化还原电对的氧化电位低于 Cl₂/Cl⁻ 氧化电位, 此体系下样品中的大量氯离子不会被氧化, 即不会对汞的测定产生干扰, 从而大大提高了测定准确度。

从测定准确度来看, 酸性溴酸钾/溴化钾氧化法与微波消解法结果吻合性好。此外, 本实验还考察了这两种方法测定一个样品所需的时间。微波消解法经历消解–赶氮氧化物–测定等步骤, 测定一个样品所需时间约为 6 h, 一次可同时处理 9 个样品, 样品处理效率为 1.5/h。对于酸性溴酸钾/溴化钾氧化法, 本实验考察了不同反应时间对于冻干人尿汞质量控制样品 ZK020-2 测定结果的影响。结果显示, 酸性溴酸钾/溴化钾氧化法与样品的反应时间为 10~30 min, 对测定结果影响不大, 考虑到测定结果的稳定性, 优化的反应时间为 15 min。此方法一次可同时处理的样品不受任何限制, 样品处理效率极高。综合考虑测定结果的准确性和方法的优越性, 我们选取酸性溴酸钾/溴化钾氧化法进行职业性人群尿汞的测定, 该方法快速、准确、样品处理量大, 且简便易行。

2.2 酸性溴酸钾/溴化钾氧化法线性范围及检出限

以 0.20、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、10.00、15.00 μg/L 的汞标准溶液浓度系列做标准曲线, 得到线性回归方程为 $Y=519.0547x+31.1276$, 相关系数为 1.0000, 线性范围为 0.20~15.00 μg/L。依照处理尿样的方法做样品空白, 对样品空白溶液连续进行 11 次荧光强度测定, 用 3 倍空白的标准偏差除以标准曲线的斜率得到方法检出限为 0.0113 μg/L。

2.3 酸性溴酸钾/溴化钾氧化法的精密度和回收率

对一个样品进行 6 次平行实验, 得到方法的 RSD 为 1.75%。分别取基体尿样 5 mL, 加入 20 ng、100 ng、500 ng 汞标准储备液, 使尿样加标浓度为 4 μg/L、20 μg/L 及 100 μg/L 低中高 3 种不同的浓度水平。每个浓度做 6 次平行加标试验, 它们的加标回收率范围分别是 101.7%~108.1%、105.5%~110.0% 及 106.4%~112.3%, 由此可见, 此方法精密度和加标回收率都很理想。

2.4 酸性溴酸钾/溴化钾氧化法的质量控制实验

取冻干人尿汞质量控制样品 ZK020-1/ZK020-2 各 1 份, 待样品恢复至室温后, 按照说明书操作, 加入 5 mL 去离子水, 静置 60 min 后, 加盖混匀。再按照酸性溴酸钾/溴化钾氧化法处理质量控制样品, 测得 ZK020-1、ZK020-2 质量控制样品的浓度分别为 35.2 μg/L、49.8 μg/L, 与标准证书提供的参考值及不确定度(35.7 ± 2.5) μg/L、(49.0 ± 4.2) μg/L 中位值接近, 由此证明

此方法具有很高的准确度。

2.5 尿样稳定性试验

随机选取工厂汞接触者尿样 1 份, 加入 1% 盐酸。分成 4 组, 当天测定 1 组, 其余 3 组置于室温 25~30℃ 下保存。于第 5 天、第 10 天、第 15 天各测定 1 组, 计算各组均值并与当天测定均值比较, 结果见表 2。到第 10 天相对偏差仍在 5% 以内, 第 15 天测定结果明显降低, 与当天测定结果比较, 相对偏差达到 19%。说明尿样在 1% 的酸度下室温可保存至少 1 周时间, 要想得到准确的结果, 需尽快测定。

表 2 尿样稳定性实验

保存时间	平行样品数	测定均值(μg/L)	相对偏差(%)
当天	6	15.8	—
第 5 天	5	15.7	0.63
第 10 天	5	15.6	1.26
第 15 天	5	12.8	19.0

2.6 方法的应用

应用此方法测定了灯具工厂工人尿样 14 例, 正常人群尿样 5 例。测得灯具工厂工人尿汞范围是 9.4~105.0 μg/L, 平均值为 68.2 μg/L。正常人群尿汞范围为 1.4~4.2 μg/L, 平均值为 2.3 μg/L。结果显示汞作业人员尿汞含量明显高于正常人群。

3 讨论

样品前处理方法的选择: 文献报道中, 尿汞的测定方法有微波消解法^[1]、高锰酸钾氧化法^[3-4]、恒温消解法^[5]。

尿液中汞大部分以离子态存在, 只有极少量以有机汞形态存在。本研究着重探讨酸性溴酸钾/溴化钾氧化法消解体系应用于尿样中总汞的测定, 同时与微波消解法、低温高锰酸钾氧化法比较。由于汞在较高温度下易挥发, 一般采用密闭系统如微波消解法或低温消解法。微波消解法虽可降低汞的损失, 但是处理样品速度较慢, 样品需经过消解-赶酸去除氮氧化物-定容-测定等步骤, 操作繁琐, 效率不高。低温消解法一般采用强酸(盐酸、硫酸、硝酸、高氯酸)、强氧化剂体

系(高锰酸钾、重铬酸钾、双氧水、硫代硫酸钾)处理样品, 低温消解法也可避免汞的挥发, 最终还原步骤中溶液产生的其他气体和试剂带来的空白值是干扰测定的主要考虑因素。酸性溴酸钾/溴化钾氧化法消解体系广泛应用于河水、水源水及生活饮用水中总汞的测定。溴酸钾/溴化钾氧化法在酸性条件下产生氧化性的溴, 可将样品消解, 使所含汞全部转化为二价无机汞, 样品中原本含有的游离态 Hg^{2+} 与生成的 Hg^{2+} 跟 Br^- 结合生成稳定的 $HgBr_4^{2-}$ 配合物。此配合物在硼氢化钾的还原作用下产生汞原子, 在汞空心阴极灯的激发下产生荧光, 从而实现汞的测定, 此方法反应过程迅速, 可在室温下完成。本研究采用酸性溴酸钾/溴化钾氧化法处理尿样, 整个检测过程无需加热, 反应时间短, 可大批量处理样品, 与微波消解法和低温高锰酸钾法比较, 该方法新颖、快速、准确、高效、简便易行, 非常适用于大批量职业性人群尿汞的测定, 可大大提高工作效率, 是一个值得推广普及的测定尿汞的方法。

(志谢: 感谢宁波市社会发展基金 2011C50057、宁波市自然科学基金 2012A610184 及浙江省公共卫生应急检测关键技术重点实验室开放课题的资助。)

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] 俎建文, 胡亚奇, 张冬民. 尿汞的微波消解-原子荧光测定法[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006, 24(5): 298-299.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [3] 麦剑平, 许启荣. 冷原子吸收法测定尿汞消化方法的比较[J]. 职业与健康, 2003, 19(4): 30-31.
- [4] 袁鹏, 赵杰, 孙设宗. 硼氢化钾还原冷原子吸收光谱法测定尿汞[J]. 中国工业医学杂志, 2006, 19(3): 189-190.
- [5] 陈建文, 周荣荣, 丁凤兰, 等. 恒温消解-原子荧光法测定尿中总汞的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(8): 1436-1437.

(收稿日期: 2012-03-21)

(英文编审: 黄建权; 编辑: 郭薇薇; 校对: 郑轻舟)