

微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定尿中铅的分析质量控制

殷忠

摘要: [目的] 通过对微波消解的电感耦合等离子体质谱法测定尿中铅, 实施分析质量控制和进行分析误差预测, 了解实验室铅检测能力和质量控制能力, 提高实验室检测结果的准确性和可比性。[方法] 按水质分析评价微量元素精密度和准确度中的实验室内部质量控制工作程序进行。[结果] 各种溶液测定的总标准差(S_r)均小于其浓度的 5%, 总平均回收率可信限($R/d=1.03$)在允许范围内, 质控考核结果为满意。[结论] 用微波消解的电感耦合等离子体质谱法测定尿中铅, 实验室分析误差可控制在容许值内。

关键词: 电感耦合等离子体质谱法; 尿; 铅; 分析质量控制

Analytical Quality Control of Determination of Lead in Urine by Microwave Digestion and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry YIN Zhong (Guizhou Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guiyang, Guizhou 550004, China) · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To implement analytical quality control and predict analysis error of lead determination in urine by microwave digestion and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), so as to investigate the laboratory lead testing and quality control capability, and to enhance the accuracy and comparability of laboratory testing results. [Methods] According to the water laboratory analytical quality control (AQC/WATER) procedure for precision and accuracy of trace elements, the analysis was processed. [Results] Total standard deviation of every solution was less than 5% (W) of the concentration, and confidence limit of total average rate of recovery ($R/d=1.03$) was in allowable range. The testing result of the blind samples was satisfactory. [Conclusion] The laboratory analysis error of lead determination in urine by microwave digestion and ICP-MS can be controlled in the permitted range.

Key Words: inductively coupled plasma mass spectrometry; urine; lead; analytical quality control

铅是一种严重危害人体健康的金属元素。职业铅接触者是铅中毒的高危人群, 铅对人体的伤害是直接的, 而且有些伤害是不可逆的^[1], 因此, 铅对人体健康的危害越来越被人们重视。尿铅是国家职业卫生标准 GBZ 37—2002^[2]职业性慢性铅中毒的实验室检测指标, 亦是铅作业人员职业性健康检查的常规必检项目, 是能够反映近期铅接触水平的敏感指标。

在我国大陆慢性职业中毒病例中, 工业性铅中毒一直占据首位。在所有生物检材类型中, 尿液容易获取, 且操作简单, 具有十分重要的评测意义。尿液是复杂多变的基体, 用石墨炉原子吸收光谱法测定尿中铅^[3], 消除基体干扰是其最大难题。目前在国家职业卫生标准方法中, 还没有用微波消解的电感耦合等离子体质谱法测定尿中铅含量的检测方法。电感耦合等离子体质谱法是近年来发展较快的全新痕量分析技术, 是当前较为理想的金属毒物检测法。作为元素分析的一种强有力手段, 具有选择性好、灵敏度高、取样量少、大大缩短测试时间等优点, 可以快速、准确地对样品进行分析。但在客观上要求实验室应具备良好的检测该项目的能力。为了保证用微波消解的电感耦合等离子体质谱法测定尿中铅分析数据的可靠性, 必须在分析前对分析方法的误差作全面评价。本研究拟参照水质分析质量

控制程序, 用微波消解的电感耦合等离子体质谱法对尿中铅的测定进行分析误差预测, 即对该方法的精密度和准确度作出评价, 通过该实验了解该方法在实验过程中的误差来源和大小, 将误差控制在允许的范围, 以提高实验室铅检测结果的准确性和可比性, 为职业卫生监督提供准确、可靠的依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

X Series2 型四极杆电感耦合等离子体质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司, 带半导体制冷雾化器、等离子体屏蔽装置、耐高盐接口和六极杆碰撞池); 意大利 Milestone 公司微波消化炉。高纯硝酸(BVⅢ级, 北京化学试剂研究所); 1 g/L 砷单元素标准溶液(标样号为 GSB04-1714-2004, 国家标准物质研究中心); 内标元素 In(铟)、Bi(铋)(1 g/L, 国家标准物质研究中心), 上机混合内标元素浓度分别为 In(10 μg/L)和 Bi(10 μg/L); 所用纯水为超纯水(电导率 < 0.05 μS/cm); 高纯硝酸和双氧水(优级纯)混合液(4:1); 德国 Eppendorf 公司移液器。

1.2 仪器工作条件

内标液管与进样液管通过三通阀 1:1 在线加入。萃取电压为 -146 V, 透镜 1 电压为 -1.5 V, 透镜 2 电压为 -24.5 V, 透镜 3 电压为 -196.8 V, 极偏压为 0 V, 采样深度为 129 mm, 炬箱水平位置为 16 mm, 炬箱垂直位置为 540 mm, 冷却气(高纯氩气)流量为 14 L/min, 辅助气(高纯氩气)流量为 0.59 L/min, 雾

[作者简介] 殷忠(1966—), 男, 硕士, 主任技师; 研究方向: 卫生理化检验和毒物化学检验分析; E-mail: yinzhong2006@163.com

[作者单位] 贵州省疾病预防控制中心卫生检验所, 贵州 贵阳 550004

化气流量为 0.82 L/min, 功率为 1300 W, 模拟电压为 2100 V, 总电压为 3200 V, D1 电压为 -45.2 V, 聚焦电压为 0 V, D2 电压为 -150 V, 六极杆偏压为 -30 V。

1.3 微波消解条件

采用微波消解进行样品前处理, 微波消解条件优化后的程序见表 1^[4]。

表 1 微波消解程序

步骤	升温时间 (min)	功率 (W)	温度 (℃)	保持时间 (min)
1	3	600	160	3
2	2	700	180	3
3	2	800	210	12

1.4 样品处理

用移液器准确吸取样品 5.0 mL 放入聚四氟乙烯消化罐中, 加入 2 mL 高纯浓硝酸和 1 mL 双氧水。然后按表 1 步骤进行微波消化, 冷却, 打开容器, 把聚四氟乙烯消化罐放在电热板上 200℃ 蒸干酸, 用超纯水冲洗消化罐内壁, 转移至 50 mL 容量瓶中定容备测, 同步做空白实验。

1.5 测定方法

样品经微波消化定容至 50 mL 容量瓶中, 按“1.2”的条件进行测定, 采用标准曲线法定量, 用混和内标校正基体干扰和漂移。

1.6 质量控制程序

1.6.1 实验室内部分析质量控制

1.6.1.1 分析方法误差的预评价 (1) 精密度与偏性试验: 偏性也称为系统误差, 指由分析过程中的某些恒定因素造成的分析结果总体均值与“真值”之间的差别。而系统误差是受随机误差影响的, 所以偏性是包括随机误差在内的总误差^[5], 偏性试验是检查分析方法的系统误差来源。一个有效的偏性试验可以将已知量的被测物质加入典型的样品中成为“加标样品”, 与未加标的样品分析结果之差计算回收值, 根据与期望回收值的比较, 用回收率估计方法的准确度。按照文献[6]评价微量元素分析的精密度和准确度的实验室内部质量控制 (AQC) 工作程序, 准备以下 5 种试样: ①空白溶液 (3% 硝酸溶液); ② 0.1C 铅标准溶液 (10.0 μg/L); ③ 0.9C 铅标准溶液 (90.0 μg/L) (C 为分析方法测定范围的上限, 本实验 C 为 100.0 μg/L); ④尿样; ⑤加标尿样 (50 μg/L): 准确吸取 5.0 mL 1 μg/mL 铅标准溶液, 加至尿样中, 并用尿样稀释至 100 mL 容量瓶中, 充分混匀。上述 5 种样品配制完毕后, 按随机顺序进行平行测定, 每天分析 1 批, 共做 20 批。(2) 评价方法: ①方法的精密度, 采用总标准差来衡量。各种试样测定的总标准差若小于其测定浓度的 5%, 表明该方法的精密度符合要求。②方法的准确度, 采用总平均回收率可信限 R/d (R : 平均回收浓度, μg/L; d : 预期回收浓度, μg/L) 来衡量。当 $0.95 \leq R/d \leq 1.05$ 时, 平均回收浓度可被接受, 即方法的回收率在 95%~105% 之间。其中, 预期回收浓度 d 的计算, 见下式:

$$d = V_1(c-u)/(V_1+V_2) \quad (1)$$

式中: d —预期回收浓度, μg/L; V_1 —加标取用的标准溶液体积, 5 mL; V_2 —加标取用的尿样体积, 95 mL; u —尿样中铅的含量, 35 μg/L; c —加标铅标准溶液浓度, 1000 μg/L。

1.6.1.2 常规分析质量控制 (1) 实验室内部质控样的配制: 准确吸取 5.0 mL 1 mg/L 铅标准溶液, 加至尿样中, 并用尿样稀释至 100 mL 容量瓶中, 充分混匀, 即成加标量为 50 μg/L 的内控样。(2) 控制图的建立和使用: 在日常分析中, 测定未知样品的同时带测一个质控样品, 当积累 20 个以上时, 便可同时作出精密度和准确度控制图, 以便检验方法的精密度和准确度, 随时校正各种因素带来的测定误差。

1.7 统计学方法

用 SPSS 13.0 软件进行统计学资料的单因素 F 检验, 以 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 批内、批间变异分析, 检验总标准差评价结果

由表 2 可见, 各试样批内、批间变异分析差异无统计学意义。由 5 种试样共测定 20 批次的批内及批间均方求得的总标准差 (S_t) 均小于各自测定质量浓度的 5% (W), 总标准差 S_t 均可被接受, 故分析的精密度已达到要求。

表 2 5 种试样的批内、批间变异和检验总标准差分析统计结果

项目	空白 (μg/L)	0.1C 标准 溶液 (μg/L)	0.9C 标准 溶液 (μg/L)	尿样 (μg/L)	加标尿样 (μg/L)
批内均方 (M_0)	—	0.0033	0.0056	0.0066	0.0047
批间均方 (M_1)	—	0.0046	0.0067	0.0089	0.0096
$F=M_1/M_0$	—	1.39	1.20	1.35	2.04
批内标准差 (S_w)	0.022	0.058	0.075	0.083	0.069
批间标准差 (S_b)	—	0.026	0.027	0.036	0.049
总标准差 (S_t)	0.023	0.062	0.078	0.088	0.085
S_t^2	—	0.0038	0.0061	0.0077	0.0071
W (5% 浓度值的标准差)	—	0.105	0.915	0.175	0.435
W^2	—	0.011	0.837	0.031	0.19
S_t^2/W^2 (方差比)	—	0.345	0.007	0.248	0.037
总标准差 S_t 可否接受	—	可以	可以	可以	可以

由各批加标样品测定值与样品测定值的差 M 计算平均回收浓度 R 。结果: $\sum M=994 \mu\text{g/L}$, $R=\sum M/n=\sum M/20=49.7 \mu\text{g/L}$; 计算获得预期回收浓度: $d=48.2 \mu\text{g/L}$, $R/d=49.7/48.2=103\%$, 介于 95%~105% 之间, 故总平均回收浓度 R 可被接受, 即分析的准确度达到要求。

2.2 精密度控制

用日常积累的 20 个质控样测定值计算出平均值 $\bar{X}=4.98 \mu\text{g/L}$, 标准差 $S=0.087 \mu\text{g/L}$, 则上下控制限为: $\bar{X} \pm 3S$, 即 4.72~5.24 μg/L, 上下警告限为: $\bar{X} \pm 2S$, 即 4.81~5.15 μg/L。

2.3 准确度控制图

先用 20 个质控样测定结果计算出百分回收率 $P=(\text{测定值}/\text{已知值}) \times 100\%$ 。该实验的平均回收率 $P=99.84$, $S_P=0.55$, 则上控制限为: $P+3S_P=101.5$; 下控制限为: $P-3S_P=98.1$; 上警告限为: $P+2S_P=101.0$; 下警告限为: $P-2S_P=98.6$; 上辅助限为: $P+S_P=100.4$; 下辅助限为: $P-S_P=99.2$, 见图 1。在做每批尿样的同时做一对已配制好的质控样 (本底和加标), 计算其回收率画在准确度控制图上的点为“○”, 即为新点 (质控样回收率)。

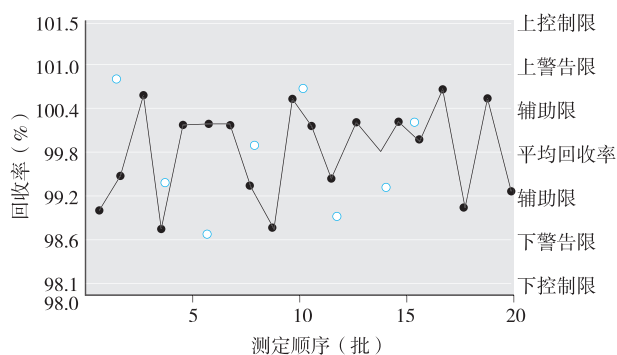


图1 电感耦合等离子体质谱法测定尿中铅准确度控制图

2.4 测定结果的准确度检验

用 $P \pm S_p$ 控制图检验分析结果的准确度。通过图1可以看出实验室的测定结果是否在控制之中,从而提醒实验员注意误差产生的原因并采取措施加以纠正。在日常分析每批样品的同时分析一对质控样,质控样结果的新点均位于上下控制限之间(图中“○”点为新点),表示该批样品分析结果正常,数据可靠。如果新点位于上下控制限之外,表示分析失控,应重新测定该批全部样品,并对分析方法、环境条件、操作技术等进行检查。要把误差控制在规定的限度内。

2.5 标准物质(质控样)的分析

对国家有证标准物质 GBW 09104(中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所制作)冻干人尿铅成分分析标准物质中的铅进行了测定。应用水质分析中评价微量元素精密度和准确度的 AQC 工作程序的质控试验,对微波消解的电感耦合等离子体质谱法测定考核盲样——冻干人尿中微波消解的含量的分析误差进行预测,把实验室分析误差控制在容许范围内后,将测量结果 $248.6 \mu\text{g/L}$ 与证书值 $(252 \pm 30) \mu\text{g/L}$ 相比较,表明考核结果符合要求。

3 讨论

铅元素是职业病卫生监测的重要指标,误差的预测是实验室内部质量控制的重要组成部分。即使在具有良好管理水平和条件的实验室,分析结果仍受到一些因素的影响而伴随误差。分析数据的质量是指具有良好的精密度和准确度,它取决于分析方法的可靠程度,操作者对分析方法的了解和能否正确地运用。要使方法具有较小的随机误差和系统误差,必须在方法应用前对其误差作一个全面评价,即分析误差预测——精密度、偏性分析质量控制试验^[7]。通过该实验可以了解方法在实验过程中的误差来源及其大小,并采取措施将误差控制在允许的限度内。

由5种试样的批内、批间变异和检验总标准差分析结果可知:5种试样的批内及批间均方的误差没有统计学意义($F < F_{0.05}$)。用总标准差衡量方法的精密度,按照 $S^2/w^2 \leq F_{0.05}$ 的关系,在0.05概率水准上,各种试样的总标准差若小于其各自浓度的5%或方法的检出限,则表示精密度符合要求。如试样批内、批间变异分析有统计学意义($F > F_{0.05}$),说明各批间的误差有变异来源,实验结果可能受到环境条件的影响。通常下批内均方值(M_0)总是小于批间均方值(M_1),因 M_0 是在同批内测定的,表明结果没有受到环境及样品不稳定因素的影响。实验中若 $M_1 < M_0$, $F = M_1/M_0$, 若 $F < F_{0.05}$, 说明批内和批间变异无统

计学意义,可将批间变异视为零;若 $F = M_1/M_0 > F_{0.05}$, 源于污染、测试等方面的误差则起支配作用,必须对该分析方法及操作技术中所存在的反常的误差来源进行检查并予以纠正。

本研究结果显示,5种试样的批内及批间均方的误差均无统计学意义。表明结果没有受到环境及样品不稳定因素的影响。由此可见,尿中铅的电感耦合等离子体质谱测定法的误差可控制在允许的范围内,该方法的精密度和准确度均符合要求。

在痕量元素分析工作中包括诸多因素的误差来源,也存在无法控制的因素所带来的系统误差。所以在实施某一分析方法时,除了实验员对分析方法有充分的适应性外,也要做好实验室内部质量控制,以便发现来自试剂、纯水、仪器以及分析方法自身的不成熟所带来的误差来源。通过对微波消解的电感耦合等离子体质谱法测定尿中铅的分析误差进行预测,实验发现,影响测定过程中的误差因素及控制措施有以下3个方面:①样品均匀性,由于样品不均匀使取样引入误差,导致测定结果不能反映样品的真实组成,故在取样时要确保样品的均匀性。②容量器皿和试剂,实验用容量器皿的量度不准和所用试剂纯度不够即会引入误差,这些因素引入的误差往往无法控制,所以在样品测定前要对所用玻璃器皿按照规定对其量度进行校正并按要求进行清洗,消除无法控制的因素所引入的系统误差,以降低空白值。因为空白值的大小能全面地反映分析实验室和分析人员的水平。另外,试剂的纯度带来的变异主要为系统误差,在选用试剂前应根据分析方法的要求选用相应的试剂。③样品的污染和损失,样品在稀释过程中要有效防止被测组分的损失或污染,在痕量元素分析中,控制污染是质量控制最大的关键点。此外,为做好尿铅分析质量控制,还必须做到使用经过检定并处于正常运行状态的仪器设备;使用有溯源性保证的标准物质;正确制作标准工作曲线;使用与分析样品近似基体的标准样品(以有效消除基体对测量的影响)和采用国标或经过验证的可靠分析方法。只有这样才能保障做好实验室的分析质量控制,将误差严格控制在尽可能小的值域,从而使实验结果被控制在允许的误差范围内。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] 韦友欢, 黄秋婵. 铅对人体健康的危害效应及其防治途径[J]. 微量元素与健康研究, 2008, 25(4): 62-64.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GBZ 37—2002 职业性慢性铅中毒诊断标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [3] 中华人民共和国卫生部. WS/T18—1996 尿中铅的石墨炉原子吸收光谱测定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [4] 意大利 Milestone 公司. 微波消解仪 ETHOS 1/A 系列操作手册[G]. Milan: Milestone 公司, 2010: 25-28.
- [5] 刘楚文. 分光光度法测定总磷的精密度偏性试验分析[J]. 云南冶金, 2006, 35(6): 50-53.
- [6] 陈守健, 鄂学礼, 张宏陶, 等. 水质分析质量控制[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 130-136.
- [7] 段小平. 精密度——偏性分析质量控制试验在石墨炉原子吸收法中的应用[J]. 甘肃环境研究与监测, 2003, 16(4): 346-348.

(收稿日期: 2011-05-16)

(英文编审: 黄建权; 编辑: 郭薇薇; 校对: 徐新春)