

塞曼原子吸收汞分析仪测定尿汞的方法学评价

周 颖, 王 莹*, 黄 海

(锦州医科大学, 辽宁 锦州 121001)

【摘要】 目的 对塞曼原子吸收汞分析仪测定尿汞的方法进行评价, 为实验检测及临床诊断中选用简便、快捷的测汞方法提供参考。**方法** 采用塞曼原子吸收光谱法(ZAAS)和氢化物发生-原子吸收光谱法(HG-AAS)进行尿汞含量测定, 对两种方法的检出限、准确度、精密度及一致性进行比较。**结果** ZAAS在0~1000 ng/mL范围内呈良好的线性关系($R^2 = 1.0000$), HG-AAS在0~20 ng/mL范围内呈良好的线性关系($R^2 = 0.9990$)。ZAAS和HG-AAS检出限分别为0.156 ng/mL、1.593 ng/mL, ZAAS灵敏度较高。ZAAS加标回收率在97.5%~103.2%之间, HG-AAS加标回收率在95.6%~104.5%之间;重复测量10 ng/mL、100 ng/mL汞标准溶液10次, ZAAS的相对标准偏差(RSD)分别为0.30%和0.36%, HG-AAS的RSD分别为2.82%和1.11%, 两种方法准确度和精密度均满足GBZ/T 210.5-2008标准的要求, ZAAS精密度较高。用两种方法对30份尿液样本进行检测, 经配对 t 检验, 差异无显著性($P > 0.05$), 两种方法检测结果有较高一致性($R^2 = 0.9961$)。**结论** ZAAS能够快速、准确测量尿汞含量, 检出限较低、精密度较高。

【关键词】 塞曼原子吸收光谱法; 氢化物发生-原子吸收光谱法; 尿汞; 方法学评价

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 01-0086-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.01.015

Methodological evaluation of urinary mercury detection using Zeeman atomic absorption mercury analyzer

ZHOU Ying, WANG Ying*, HUANG Hai

(Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the method for detection of urinary mercury using a Zeeman atomic absorption mercury analyzer and to provide a reference for selecting a convenient method for mercury detection in experiments and clinical diagnoses. **Methods** Urinary mercury was detected by Zeeman atomic absorption spectroscopy (ZAAS) and hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS), and the detection limit, accuracy, precision and consistency of the two methods were compared. **Results** The Data collected by ZAAS and HG-AAS showed a good linear relationship in the range of 0 - 1000 ng/mL (ZAAS, $R^2 = 1.0000$) and 0 - 20 ng/mL (HG-AAS, $R^2 = 0.9990$). The detection limits of ZAAS was 0.156 ng/mL and that of HG-AAS was 1.593 ng/mL, indicating that ZAAS is more sensitive. The recovery rate of standard addition of ZAAS was between 97.5% and 103.2%, and that of HG-AAS was between 95.6% and 104.5%. After measurement of 10 ng/mL and 100 ng/mL mercury standard solutions repeated for 10 times, the relative standard deviation (RSD) of ZAAS was 0.30% and 0.36% respectively, and the RSD of HG-AAS was 2.82% and 1.11%, respectively. The accuracy and precision of both the two method met the standards of GBZ/T 210.5 -

[基金项目] 国家自然科学基金项目(编号:81503209); 辽宁省教育厅一般项目(编号:L2015320)。

[作者简介] 周颖(1991—), 女, 硕士研究生, 专业: 卫生毒理学。E-mail: zy204518@163.com

[通信作者] 王莹(1975—), 女, 博士, 教授, 研究方向: 卫生毒理学。E-mail: wangying6108@163.com

2008, and the precision of ZAAS was better. A total of 30 urine samples were measured by these two methods. The results were compared with paired-samples *t*-test and showed a non-significant difference ($P > 0.05$), indicating a high consistency of these two method ($R^2 = 0.9961$). **Conclusions** ZAAS is a convenient and accurate method for the detection of urinary mercury, with a relatively low detection limit and better precision.

【Key words】 Zeeman atomic absorption spectroscopy, ZAAS; hydride generation atomic absorption spectrometry, HG-AAS; urinary mercury; methodological evaluation

汞是常见重金属元素,具有持久性、易迁移性和高度的生物富集性,并且毒性很强,可造成肾、肝、神经系统、生殖系统等损害。汞被联合国环境规划署列为全球性污染物,具有跨国性污染,是全球广泛关注的环境污染物之一^[1-2]。汞主要经肾脏随尿排出,尿汞的排出量约占总排出量的 70%^[3],尿汞是判断接触汞作业工人汞中毒的重要指标^[4],因此,测定尿液汞浓度具有重要意义。目前汞的测定方法包括原子吸收法^[5-6]、原子荧光法^[7-8]、电感耦合等离子体-质谱法^[9-10]、双硫腺分光光度法^[11],还有近几年兴起的电感耦合等离子体-原子发射光谱法^[12]、直接测汞仪法^[13]等。但这些方法样本预处理繁琐(消解、赶酸等),无法满足大批量样本快速筛查的需求,同时依赖大型仪器和专业操作人员。其中原子吸收法是使用最普遍的国家标准方法^[14],有时还需要经金汞齐吸附后再测定,耗时又费力,更不可能现场实时检测。因此,选择一种简便、快捷的检测方法具有很大的实用价值。

塞曼原子吸收汞分析仪(Zeeman atomic absorption mercury analyzer)(以下简称汞分析仪)应用高频调制偏振光的塞曼原子吸收技术,是一种便携的(仪器总质量 7 kg)测汞仪,可进行现场实时检测,不需要检测前的金汞齐富集,且样本不需要做消解等预处理。样品分析采用热解法(符合 US EPA Method 7473),可直接测量各种介质中(气体、固体、液体)的汞含量,无需耗材(不需载气和金丝吸附管等),后续使用和分析成本低。本文采用塞曼原子吸收光谱法(Zeeman atomic absorption spectroscopy, ZAAS)和氢化物发生-原子吸收光谱法(hydride generation atomic absorption spectrometry, HG-AAS)两种方法对尿液中汞含量进行测定,对两种方法的检出限、准确度、精密度以及结果一致性进行比较,为实验检测及临床诊断中选用简便、快捷的测汞方法提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 30 只,雌雄各半,体重(180 ± 20) g,购于辽宁长生生物技术有限公司[SCXK(辽)2015-0001]。置大鼠饲养笼中[SYXK(辽)2014-0010],室内温度控制在 $20^\circ\text{C} \sim 24^\circ\text{C}$,室内昼夜自然明暗交替照明,饲喂标准大鼠饲料。动物分 5 组,每组 6 只,模型组以 1 g/kg 朱砂灌胃,分别于给药 4 周、8 周、12 周、灌胃 12 周停药 4 周后收集尿液用于检测,另设溶剂对照组,以 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液灌胃 4 周后,收集尿液。动物实验经锦州医科大学实验动物伦理委员会审查批准(编号:2016006)。

1.2 主要试剂与仪器

汞标准溶液($1000 \mu\text{g/mL}$)由俄罗斯 Lumex 分析仪器公司提供,其他试剂均为优级纯,实验所用水均为电导率小于 $0.1 \mu\text{S/cm}$ 的去离子超纯水,所有容器均用 20% HNO_3 浸泡 24 h,超纯水洗后待用。

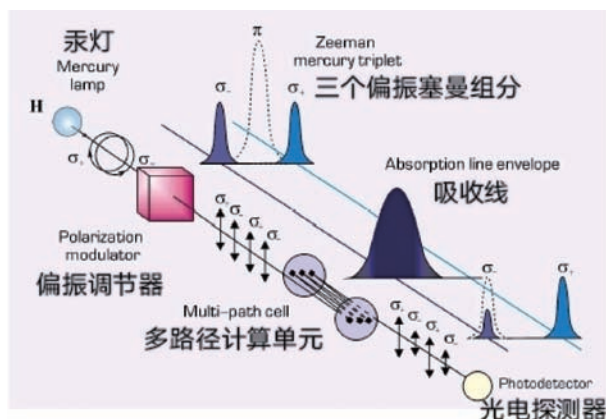
PE AA800 原子吸收分光光度计,配自动进样器,美国 PerkinElmer 公司;MHS15 氢化物发生器,美国 PerkinElmer 公司;Coolpex 灵动型微波化学反应仪,上海屹尧仪器科技发展有限公司;RA-915M 塞曼原子吸收汞分析仪,配 RP-91 配件,俄罗斯 Lumex 分析仪器公司。

1.3 实验方法

1.3.1 汞分析仪工作原理

汞分析仪的加热室包括独立的两部分,每部分可加热到 800°C ,一定量的样品放入石英舟插入加热室的第一室,非挥发性汞化合物直接分解,有机汞等易挥发化合物,能在加热期间被蒸发和部分分解,所有形成的气态产物运送到加热室的第二室,在此汞化合物被完全分解,汞、烟和其他干扰物质(主要是燃烧产生的 H_2O 和 CO_2)随气流进入外界分析池。置于永磁体 H(图 1)内的汞灯由高频发生器激发,发射出汞共振线($\lambda = 253.7 \text{ nm}$)在高磁场

下通过塞曼效应分裂为 π 、 σ^- 和 σ^+ , 经过偏振调节器, π 、 σ^- 和 σ^+ 以一定的频率交替通过分析区, 当射线沿着磁场方向传播时, 光电探测仪仅仅探测 σ 射线。当分析池中无汞时, 两部分 σ 射线的强度是一样的。当分析池中有汞原子吸收时, 两部分 σ 射线的强度的差值随着汞气浓度的增加而增加, 两者差值即为试样中汞元素的特征吸收值。 π 组分的波长不变, 供试样中汞基态原子作共振吸收及背景吸收, 仪器会自动做背景扣除。并且, 汞分析仪无需金丝富集和冷却步骤, 高温分解样品 (800°C) 和短滞留时间防止汞原子与其他活泼原子重组, 且直接与光谱仪偶联, 实现无干扰的高灵敏检测。



注: H: 永磁体。

图 1 汞分析仪操作原理

Note. H: Permanent magnet.

Fig. 1 Operating principle of the mercury analyzer

1.3.2 仪器工作条件

原子吸收光谱仪: 波长 253.7 nm , 灯电流 6 mA , 狭缝宽度 0.7 nm , 读数时间 20 s , 计算方式为峰高, 重复 3 次, 其余均按默认值设定, 进样量为 10 mL , 5% SnCl_2 为还原剂, 载气为 99.99% 的氩气。

汞分析仪: 波长 253.7 nm , 气泵流速 1 L/min (载气为空气), 计算方式为峰面积, 积分时间 120 s , 热解析温度为 $680^\circ\text{C} \sim 800^\circ\text{C}$, 其余均按默认值设定。每次测量加少许 Na_2CO_3 粉末, 减少加热产生的水汽, 从而减少光散射, 确保测量的准确性。

1.3.3 检测方法

HG-AAS: 取 1 mL 尿液于消解罐, 加 4 mL 优级纯硝酸, 设置消解条件为 150°C 、 15 倍大气压保持 4 min , 180°C 、 25 倍大气压保持 4 min , 充分消解后冷却至室温, 1.5% HCl 定容到 10 mL 。取 10 mL 汞标准溶液或充分消解的样品液 (以 1.5% HCl 为酸介质), 加入到样品管中, 加几滴 5% KMnO_4 , 摇匀后

拧紧不能漏气, 按下盛有 5% SnCl_2 溶液的按钮大约 $10 \sim 15\text{ s}$, 完成一次样品检测, 实验平行重复 3 次。

ZAAS: 取 0.1 mL 汞标准溶液或尿液, 小心加入石英舟内, 加少许 Na_2CO_3 粉末, 放入加热炉检测, Na_2CO_3 粉末和石英舟每次检测前需在加热炉灼烧至汞全部去除 (仪器信号回归基线), 实验平行重复 3 次。

1.4 统计学方法

数据以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, SPSS 17.0 统计软件分析, 两均数间的比较采用配对 t 检验 (paired-samples t -test), $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 标准曲线

HG-AAS: 取汞标准储备液, 用 1.5% HCl 稀释成浓度为 0 ng/mL 、 0.05 ng/mL 、 2 ng/mL 、 4 ng/mL 、 10 ng/mL 、 15 ng/mL 、 20 ng/mL 汞标准工作液, 分别加 $2 \sim 3$ 滴 5% KMnO_4 , 按 1.3.3 中的方法测定, 每个浓度平行测定 3 次。回归方程为: $Y = 0.0106X - 0.0006$, 相关系数 $r = 0.9990$, 在 $0 \sim 20\text{ ng/mL}$ 范围内呈现良好线性关系。

ZAAS: 取汞标准储备液, 用 5% HNO_3 稀释成浓度为 0 ng/mL 、 1 ng/mL 、 5 ng/mL 、 25 ng/mL 、 125 ng/mL 、 625 ng/mL 、 1000 ng/mL 汞标准工作液, 分别加 $2 \sim 3$ 滴 5% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 按 1.3.3 中的方法测定, 每个浓度平行测定 3 次。回归方程为: $Y = 396.28X - 90.545$, 相关系数 $r = 1.0000$, 在 $0 \sim 1000\text{ ng/mL}$ 范围内呈现良好线性关系。

2.2 方法的检出限

分别用两种方法检测 10 次空白试剂 (电导率小于 $0.1\text{ }\mu\text{S/cm}$ 的去离子超纯水), HG-AAS 经过消解后测量, ZAAS 不用消解直接测量, HG-AAS 和 ZAAS 结果分别为 $(0.037 \pm 0.531)\text{ ng/mL}$ 、 $(0.009 \pm 0.052)\text{ ng/mL}$ 。检出限为 3 倍空白值的标准差, 所以 HG-AAS 和 ZAAS 检出限分别为 1.593 ng/mL 、 0.156 ng/mL , ZAAS 检出限低于 HG-AAS, 灵敏度比 HG-AAS 高。

2.3 方法的加标回收率

为证实方法的准确度, 分别对两份大鼠尿液样本做加标回收率实验 (表 1), HG-AAS 和 ZAAS 的回收率分别在 $95.6\% \sim 104.5\%$ 和 $97.5\% \sim 103.2\%$ 之间, 两种方法的回收率均满足 GBZ/T 210.5 - 2008^[15] 的要求 (即回收率在 $75\% \sim 105\%$ 之间), 表明两种检测方法的结果准确可靠。

表 1 两种方法加标回收率检测结果($n=3$)
Tab.1 Recovery rate of standard addition of the two methods

样本本底值 (ng/mL) Background values of samples	加标量 Standard addition amount	HG-AAS		ZAAS	
		测定值 Measured values	加标回收率 (%) Recovery rate of standard addition	测定值 Measured values	加标回收率 (%) Recovery rate of standard addition
5.45	5	10.23	95.6	10.61	103.2
	10	15.32	98.7	15.60	101.5
	15	20.71	101.7	20.07	97.5
	10	20.06	97.8	20.19	99.1
10.28	20	31.18	104.5	30.52	101.2
	30	39.79	98.4	40.33	100.2

表 2 两种方法精密度检测结果($n=10$)
Tab.2 Precision of the two methods

指标 Indices	汞标准溶液 1 Mercury standard solution 1		汞标准溶液 2 Mercury standard solution 2	
	HG-AAS		ZAAS	
	HG-AAS		ZAAS	
$\bar{x} \pm s$ (ng/mL)	9.23 $\pm$ 0.26		98.51 $\pm$ 1.09	
相对标准偏差 (%) Relative standard deviation (RSD)	2.82		0.36	
标准值 (ng/mL) Standard values	10		100	

2.4 方法的精密度

分别用两种方法重复测量 10 ng/mL、100 ng/mL 汞标准溶液 10 次, HG-AAS 和 ZAAS 的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 分别为 2.82%、1.11% 和 0.30%、0.36% (表 2), 两种方法的 RSD 均满足 GBZ/T 210.5-2008 的要求 (即 $RSD \leq 10\%$), 表明两种方法的精密度均较好, ZAAS 的精密度优于 HG-AAS。

2.5 样本的测定

采用两种方法同时测定 30 份大鼠尿液汞含量, 统计数据显示两种方法检测结果差异无显著性 ($P > 0.05$); 计算出 $R^2 = 0.9961$, 两种方法符合度为 99.61% (图 2), 表明两种方法具有高度一致性。

3 讨论

HG-AAS 是目前汞测定普遍使用的方法之一, ZAAS 所使用的塞曼原子吸收汞分析仪是一种便携的快速测汞仪, 样品不需要消解等预处理, 简化了操作步骤。本研究采用 ZAAS 和 HG-AAS 两种方法对大鼠尿液中的汞含量进行了测定, 显示两种方法的检测结果具有较高的一致性, 且 ZAAS 的检出限更低、精密度更高。

汞有易挥发性和吸附性, 传统的测汞方法在测定高含量的汞后, 汞残留消除繁琐, 很难再做低浓

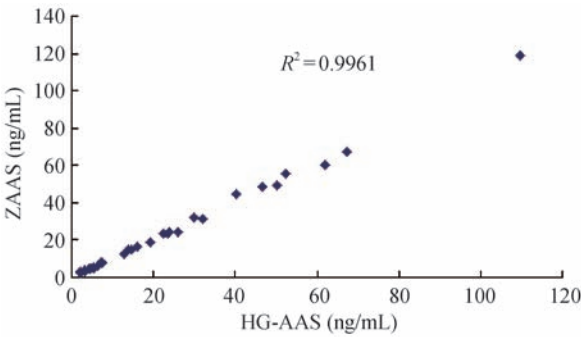


图 2 ZAAS 和 HG-AAS 检测结果一致性比较
Fig.2 Consistency of the results detected by ZAAS and HG-AAS

度汞测定。汞分析仪通过热解炉高温加热, 迅速消除残留的汞, 消除了汞的记忆效应。实验研究显示, ZAAS 测定含 300 ng 的汞标准溶液后, 再测定含 0.1 ng 的汞标准溶液, 不影响测定结果, 消除记忆效应只需 2 min 左右。此外, 汞分析仪可在一定程度上避免共存离子的干扰效应, 取 10 ng/mL 汞标准溶液 1 mL, 加 10 μ g 的 Cu^{2+} 、 Cr^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ag^{+} 等离子, 不影响汞分析仪对汞的测定。

由于热解的温度、抽气泵的气体流速可影响汞蒸气的释放, 使用汞分析仪进行检测时, 热解炉应该提前预热 10 min 左右, 炉内温度能达到 750 $^{\circ}C$ ~ 800 $^{\circ}C$, 气体流量设为 1 L/min 左右, 汞分析仪信号峰形达到最佳, 拖尾情况大大改善, 同时分析信号

的 RSD < 2%。检测过程中,热处理室表面温度可达 100℃ 以上,注意不要触摸,避免烫伤。石英舟、起泡器等附件均为易碎品,且价格较高,操作过程中注意避免掉落。

汞分析仪也可用于空气中超低浓度汞含量的实时监测,还可用于水、土壤等样品中汞的检测,在国内外均有应用^[16-17]。该方法操作简便、速度快、检测费用低,可用于大批量快速筛查。

参考文献:

- [1] 胡月红. 国内外汞污染分布状况研究综述 [J]. 环境保护科学, 2008, 34(1): 38-41.
- [2] 刘思妹, 朱毅, 郝睿. 国内外汞污染现状及管理措施 [J]. 环境科学与技术, 2014, 37(S2): 290-294.
- [3] 孙贵范. 职业卫生与职业医学 [M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 77-78.
- [4] 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.
- [5] Shah AQ, Kazi TG, Baig JA, et al. Simultaneously determination of methyl and inorganic mercury in fish species by cold vapor generation atomic absorption spectrometry [J]. Food Chem, 2012, 134(4): 2345-2349.
- [6] Huber J, Heimbürger LE, Sonke JE, et al. Nanogold-decorated silica monoliths as highly efficient solid-phase adsorbent for ultratrace mercury analysis in natural waters [J]. Anal Chem, 2015, 87(21): 11122-11129.
- [7] 李明章, 林建奇. 微波消解-原子荧光光谱法同时测定食醋中的砷和汞 [J]. 理化检验-化学分册, 2016, 52(2): 222-225.
- [8] 杨常青, 张双双, 李芳, 等. 氧弹分解-原子荧光法快速测定煤中汞 [J]. 分析试验室, 2016, 35(5): 565-567.
- [9] de Souza SS, Campiglia AD, Barbosa F Jr. A simple method for methylmercury, inorganic mercury and ethylmercury determination in plasma samples by high performance liquid chromatography-cold-vapor-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2013, 761: 11-17.
- [10] 袁利杰, 李云, 郑子栋, 等. 微波消解-电感耦合等离子质谱法测定龟甲胶中 6 种有害元素 [J]. 分析科学学报, 2014, 30(4): 578-580.
- [11] GB 7469-87. 总汞的测定, 双硫脲分光光度法 [S].
- [12] 王斌, 况丽, 钟康华, 等. 乙二胺四乙酸二钠络合消解-电感耦合等离子体原子发射光谱法测定塑料中的铅、镉、铬和汞 [J]. 理化检验-化学分册, 2016, 52(5): 552-554.
- [13] 宋永刚, 于彩芬, 张玉凤, 等. 直接测汞仪与原子荧光法测定海洋底栖生物中痕量汞的对比研究 [J]. 分析科学学报, 2016, 32(2): 288-290.
- [14] WS/T 26-1996. 汞的测定, 冷原子吸收光谱法, II 酸性氯化亚锡还原法 [S].
- [15] GBZ/T 210.5-2008. 汞的测定, 生物材料中化学物质测定方法 [S].
- [16] 周巧丽, 郭鹏然, 潘佳钊, 等. 活性炭富集-电热塞曼原子吸收光谱法测定水中痕量的汞 [J]. 分析化学, 2016, 44(8): 1270-1276.
- [17] Di Natale F, Erto A, Lancia A, et al. Mercury adsorption on granular activated carbon in aqueous solutions containing nitrates and chlorides [J]. J Hazard Mater, 2011, 192(3): 1842-1850.

[收稿日期] 2017-06-13

·专家问答·

问: BSA + SEB 制作小鼠 IgA 肾病模型的注意事项

答: 国内多采用口服 BSA + 尾静脉注射 SEB 的方法来制作小鼠 IgA 肾病模型, 根据文献及我们的研究, 这种方法成模死亡率高, 死亡率可达到 70% 左右, 在多次重复实验中我们得出如下经验:

(1) 采用 BALB/c 小鼠。我们在实验中发现昆明小鼠死亡率显著高于 BALB/c 小鼠, BALB/c 小鼠的死亡率为 40% 左右, 昆明小鼠死亡率约为 70%, BALB/c 小鼠经常在免疫学研究中使用, 抗过敏能力强, 有文献报道与 TH2 免疫失衡有关。

(2) 增加保温措施。小鼠在注射 BSA 后会蜷缩在一起, 体表温度下降, 给予保温措施可降低小鼠死亡可能性。

(3) 采用低内毒素 BSA。目前 BSA 大致分为标准级 BSA、BSA 第五组分、无 IgG 试剂级 BSA、无蛋白酶 BSA、无脂肪酸 BSA、低内毒素 BSA、无蛋白酶/IgG BSA、诊断级 BSA 共计 8 种, 我们采取低内毒素 BSA (< 1.0 EU/mg), 配合 (1)、(2) 措施, 死亡率可降至 25% 左右。

(感谢 上海中医药大学附属曙光医院肾内科; 上海中医药大学中医肾病研究所
高建东 教授、史丽强 住院医师 的解答)