

因此,随着新标准新规范的提出和应用,应有相应的采样器和采样方法进行采样。我们的粉尘采样测定技术需要继续研究和发展;在实际采样工作中采用欧美的采样器时,应明确其采样特性。

粉尘采样是基层职业卫生技术服务机构的一项日常工作,职业卫生工作中现场采集到的“总粉尘”完全取决于采样器的性能^[7],在粉尘采样过程中,粉尘采样器起着至关重要的作用,它关系到所采集到的粉尘的质量,继而影响到对劳动者粉尘接触量的评价以及粉尘控制措施的选择。粉尘采样器的研发不单是生产厂家的行为,更应该是职业卫生机构的工作内容,如德国的粉尘采样器主要由同业公会劳动安全研究所研发。我国的职业卫生机构应与粉尘采样器研发机构紧密合作,使国产粉尘采样设备能够符合当前粉尘采样的要求,以确保粉尘采样器能满足我国现行的粉尘分类、采样方式的要求。

参考文献:

[1] 李沂,张敏,李涛. 粉尘分类及其采样与采样器的研究进展

[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2010, 28 (1): 69-72.

- [2] Kenny L C, Aitken R, Chalmers C, *et al.* A collaborative european study of personal inhalable aerosol sampler performace [J]. *Ann Occup Hyg*, 1997, 41 (2): 135-153.
- [3] 杨磊, 陈卫红, 王正伦, 等. 工作场所空气中粉尘采样的一些理论和技术问题 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2007, 25 (1): 54-57.
- [4] Wu Z, Hearl F J, Peng K, *et al.* Current occupational exposures in Chinese, iron and copper mines [J]. *Appl Occup Environ Hgy*, 1992, 7 (11): 735-743.
- [5] Dahmann D, Hartfiel G D, Jackisch J. Intercomparison and performance of stationary aerosol samplers [J]. *Gefahstoffe-Reinahrung der Luft*, 2001, 61 (5): 201-206.
- [6] DIN EN 481-1993. Festlegung der Teilchngößenverteilung zur Messung Luftgetragener Partikel [S].
- [7] Mars Proietti, laura. The Grey House Safety & Security Directory [M]. NEW YORK: Grey House Pub, 2008: 295-297.

原子荧光光谱法测定尿汞的最佳条件分析

Analysis on optimun condition of urine mercury detection using atomic fluorescence spectrometry

吴命君, 董博芳, 刘宏鹏

WU Ming-jun, DONG Bo-fang, LIU Hong-peng

(石家庄市职业病防治院, 河北 石家庄 050031)

摘要: 将尿液湿法消解后, 其中的汞在酸性条件下被硼氢化钾还原, 经原子荧光光谱仪测定尿汞。结果显示, 最佳条件为灯电流及负高压为 20 mA、200 V, 载气、屏蔽气分别 400 ml/min 和 800 ml/min, 原子化器高度为 10 mm, 读数时间为 12 s, 延迟 1 s, 载流为 5% 盐酸, 还原剂为 0.1% 的硼氢化钾。该方法在 0~10 μg/L 范围内线性相关系数在 0.999 0~0.999 8, 检出限可达 0.002 μg/L, 精密度 1.8%, 具有应用及推广价值。

关键词: 尿汞; 原子荧光光谱法; 分析条件

中图分类号: R446.12; O614.243 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2012)01-0069-03

汞为银白色液态金属, 常温下易蒸发, 汞中毒以慢性中毒为多见。生产性中毒多见于汞矿开采、汞合金冶炼及照明灯、仪表、医药等生产过程中吸入汞蒸气或汞化合物粉尘^[1]。汞在体内分布以肾脏中最高, 约 70% 随尿液排出, 因此, 测定尿汞是判断汞中毒的一个重要手段^[2]。而氢化物发生原子荧光光谱法是我国近年发展较快的一种痕量分析技术, 具有灵敏度高、精密度好、操作简便等优点。本实验详细分析了测定尿汞的影响因素, 建立了一种快速、高效、稳定的分析

方法。

1 材料与方法

1.1 仪器

AFS-3100 型双道原子荧光光度计 (北京科创海光仪器有限公司), 汞空心阴极灯; 仪器操作条件: 灯电流 20 mA, 负高压 200 V, 载气 400 ml/min, 屏蔽气 800 ml/min。

1.2 试剂

实验用水均为去离子水; 试剂均为优级纯, 盐酸羟胺 10% (W/V), 高锰酸钾溶液 5% (W/V); 载流: 5% 盐酸 (V/V); 还原剂: 硼氢化钾溶于 5% (W/V) 氢氧化钾溶液中。

汞保存液: 称取 0.1 g 重铬酸钾, 溶于 1L 5% (V/V) 硝酸中。汞标准应用液: 用汞保存液把汞标准液 (国家计量科学院提供的 1 000 μg/ml) 逐级稀释成 1.0 μg/ml 的标准应用液。

1.3 样品采集与处理

尿样收集在用酸浸洗过的玻璃瓶中, 若不能及时测定, 按 100:1 的比例加入浓硝酸, 冷冻保存。处理: 取 1.0 ml 尿液于 10 ml 比色管中, 加高锰酸钾溶液 1.0 ml, 浓硫酸 0.5 ml, 混匀放置至室温, 滴加盐酸羟胺溶液至无色, 放置 30 min, 加水定容至 10 ml。同样条件取 1 ml 水做样品空白。

1.4 标准曲线的绘制及样品测定

用 5% 盐酸逐级稀释 1.0 μg/ml 的标准应用液为 10 μg/l, 上机仪器自动稀释制作标准曲线。按同样的仪器操作条件,

收稿日期: 2011-06-21; 修回日期: 2011-07-25

作者简介: 吴命君 (1973—), 女, 主管检验师, 从事职业卫生检测工作。

测定样品空白和样品, 由标准曲线查得样品中汞含量。

2 结果与分析

2.1 仪器最佳条件的选择

2.1.1 灯电流与负高压的选择 与原子吸收不同, 原子荧光用的元素灯允许瞬时大电流而不会产生自吸, 灯电流越大产生的荧光强度越高, 灵敏度越高, 但同时会降低灯的寿命, 由于汞灯工艺特殊而且是阳极灯, 使用时最好不要超过规定的推荐值。负高压的调节与灯电流没有关系, 高压越高, 荧光信号越大, 但同时噪声也越大, 稳定性越差, 所以在达到灵敏度要求的情况下采用低的负高压, 重现性会较好。本法选择负高压 200 V, 灯电流以 15 mA、20 mA、25 mA 分别上仪器做标准系列, 还原液为 0.05% (W/V) 硼氢化钾溶于 5% (W/V) 氢氧化钾溶液中, 仪器及试剂的其他条件如上, 并利用工作站中软件进行检出限和精密度测试, 结果见表 1。

表 1 灯电流对标准曲线的影响

灯电流 (mA)	标准曲线方程	检出限	精密度
15	$I_f = 158.79c - 47.857$	0.01	1.3%
20	$I_f = 222.261c - 49.115$	0.004	1.7%
25	$I_f = 271.859c - 22.818$	0.002	4.3%

从表 1 可以看出, 随着灯电流增加, 灵敏度 (曲线斜率) 增加, 但精密度降低, 稳定性差, 所以选择灯电流为 20 mA。

2.1.2 载气与屏蔽气流量的选择 载气的作用为携带被测元素的氢化物到原子化器进行原子化, 流量大会造成气流速度快冲淡原子浓度, 导致原子化效率降低, 从而影响灵敏度, 但气流过小, 难以将气体混合物顺利、迅速地带入石英炉。据仪器推荐值载气流量一般在 300 ~ 500 ml/min 之间, 所以选择 400 ml/min 的载气; 屏蔽气的作用防止氢化物被氧化, 同时减少荧光猝灭现象。据仪器推荐值在 700 ~ 900 ml/min 之间, 所以选择 800 ml/min 屏蔽气。

2.1.3 原子化器高度选择 即调整原子化器顶部距光电倍增管中心的距离, 据仪器推荐值调整在 10 mm 左右。

2.1.4 读数时间的选择 读数时间即为数据采集时间 (自点亮元素灯照射原子蒸汽开始至荧光信号结束为止的整个过程)。根据工作站屏幕上 IF-T 关系曲线形状发现汞浓度越高, 出现荧光强度最高值的时间越滞后, 如果读数时间短, 高浓度点的 IF-T 曲线整个峰形未被全部采入, 造成标准曲线的高浓度点荧光强度值低; 读数时间长, 低浓度点峰形以外部分也过多采入, 造成标准曲线的低浓度点荧光强度值高。因此, 用 10 μg/L 的标准应用液, 上仪器自动稀释为 2、4、6、8、10 μg/L 的标准系列, 选择延迟时间 1 s, 读数时间分别为 10、12、14 s, 比较各标准曲线, 还原液为 0.1% (W/V) 硼氢化钾溶于 5% (W/V) 氢氧化钾溶液中, 仪器及试剂的其他条件如上。结果见表 2。

最佳条件为, 选择灵敏度高 (即斜率大的); 再者由于各浓度点的荧光强度值均为减去标准空白后的值, 标准曲线截距的理论值应为零。所以, 由表 2 可以得出最佳读数时间为 12 s, 延迟 1 s。

表 2 读数时间对标准曲线的影响

标准应用液浓度 (μg/L)	荧光强度		
	10 s	12 s	14 s
2	286.333	519.353	656.169
4	820.803	1 199.504	1 345.332
6	1 381.897	1 766.832	1 981.393
8	1 965.333	2 316.188	2 660.451
10	2 371.095	2 899.192	3 015.206
标准曲线方程	$I_f = 265.703c - 229.125$	$I_f = 293.82c - 22.695$	$I_f = 301.66c + 121.75$

2.2 载液及其酸度的选择

硝酸有氧化作用, 可降低还原剂的还原性, 且易分解, 产生的气态氮氧化物影响荧光强度; 硫酸易与试样中一些重金属离子形成沉淀, 造成待测元素的共沉淀降低检测结果; 盐酸是还原性酸, 同时氯化物沉淀要比硫酸盐沉淀少很多, 只有少数几种盐酸盐会沉淀, 基本不会影响测定结果。因此, 确定最佳酸为盐酸。

酸度的选择, 酸度过高, 产生的气流大, 信号干扰大, 从而影响灵敏度, 但酸度太低, 溶液中的共存金属离子会产生干扰, 而且酸度过低, 容易产生固态氢化物或泡沫状氧的衍生物, 干扰测定。据文献 [1] 盐酸浓度在 0.06 ~ 0.60 mol/L (体积比为 2% ~ 5%) 时荧光强度最大且稳定, 而且尿液处理后酸度接近 5% (V/V), 所以选用 5% 的盐酸做载液。

2.3 还原剂的影响

高浓度的硼氢化钾产生大量的氢, 稀释汞原子浓度, 造成很大的气相干扰。本实验选择硼氢化钾的浓度分别为 0.05%、0.1%、0.2% 进行试验, 仪器及试剂的其他条件如上, 结果见表 3。

表 3 硼氢化钾浓度的影响

硼氢化钾浓度	标准曲线方程	检出限(μg/L)	精密度
0.05%	$I_f = 222.261c - 49.115$	0.004	1.7%
0.1%	$I_f = 265.703c - 229.125$	0.002	1.8%
0.2%	$I_f = 250.16c - 259.557$	0.005	2.3%

由表 3 可以看出, 用 0.1% 硼氢化钾, 曲线斜率最大, 即灵敏度最高, 且 RSD 不高, 稳定性相对好, 所以选择 0.1% 硼氢化钾浓度为最佳。

2.4 样品处理中带入的影响

我们选用同一尿样, 分别用放置 1 个月的高锰酸钾和新配置的高锰酸钾处理, 比较荧光强度, 再在不同器皿用新高锰酸钾处理, 比较荧光强度, 数据见表 4。

表 4 样品处理过程对荧光强度影响

处理液类型	荧光强度			
	第一次	第二次	第三次	平均值
玻璃瓶中旧 KMnO ₄ 处理	1 991.040	1 993.205	2 034.377	2 006.207
玻璃瓶中新 KMnO ₄ 处理	2 190.645	2 236.189	2 255.857	2 227.564
塑料瓶中新 KMnO ₄ 处理	2 151.486	2 098.390	2 128.698	2 126.191

由表 4 可见, 存放及处理尿样的容器最好选用玻璃器皿, 因为汞极易被吸附, 塑料比玻璃有更多汞的吸附, 同一样品

用塑料瓶处理比玻璃瓶的荧光强度降低约 5%。尿样处理过程中加的高锰酸钾溶液最好现配,放置时间不要超过 2 周,放置时间越长氧化能力降低,且分解产生的二氧化锰会吸附更多的汞,放置 1 个月的高锰酸钾测定时荧光强度降低约 10%。

3 结论

3.1 标准曲线线性范围

以试验确定的最佳试验条件为,灯电流及负高压 20 mA、200 V,载气、屏蔽气分别 400 ml/min 和 800 ml/min,原子化器高度 10 mm,读数时间 12 s 延迟 1 s,载流 5% 盐酸,还原剂为 0.1% 的硼氢化钾。于不同时间测试 6 条标准曲线,在 0~10 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性相关系数在 0.999 0~0.999 8,由于尿中汞含量不高,该范围可满足测量。

3.2 检出限及精密度

利用工作站软件测试检出限,即标准空白溶液的 11 次测量值的标准偏差 SD,按公式 $DL = 3 \times SD / K$,该方法检出限可达 0.002 $\mu\text{g/L}$,按照尿液处理方法,1 ml 尿样处理后定容为 10 ml,尿汞的最低检出浓度为 0.02 $\mu\text{g/L}$ 。利用工作站软件测试精密度为 1.8%。

参考文献:

- [1] 蔡慧华,彭速标.痕量汞的测定方法进展[J].理化检验—化学分册,2008,44(4):385-389.
- [2] 吴培华,黄文耀,刘强.原子荧光光度法测定尿中汞[J].公共卫生与预防医学,2006,17(6):63-64.

壮族人群转化生长因子- β_1 基因 C-509T 位点多态性与矽肺的相关性

Study on correlation between gene polymorphism of TGF- β_1 -C-509T locus and silicosis in the Chuang

周武旺¹, 黄小琪², 陈志强¹, 陈晶², 卢雪梅¹, 何雪明¹, 李荣娟¹

ZHOU Wu-wang¹, HUANG Xiao-qi², CHEN Zhi-qiang¹, CHEN Jing², LU Xue-mei¹, HE Xue-ming¹, LI Rong-juan¹

(1. 广西壮族自治区职业病防治研究院, 广西 南宁 530021; 2. 广西中医学院第一附属医院, 广西 南宁 530023)

摘要: 随机选择壮族健康未接尘工人 30 名, 接尘工人 58 名, 矽肺 51 例, 用 PCR-RFLP 方法进行 TGF- β_1 -C-509 位点多态性检测。接尘组 C-509T 位点上 CC 基因型的个体显著高于对照组, 也高于矽肺组。提示 C-509T 等位基因上 CC 基因型可能是壮族个体免于罹患矽肺的一种保护因素。

关键词: 壮族; 矽肺; TGF- β_1 ; C-509T 位点多态性

中图分类号: R135.2 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2012)01-0071-02

转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 不仅仅是细胞生长和分化的调节因子, 还是一个重要的致纤维化和免疫调节因子, 它可以调控肺成纤维细胞分裂、增殖及胶原蛋白的合成与降解, 在矽肺的发生转归中起着重要作用。人类 TGF- β_1 基因有 5 个明显的调控区, 其中定位于第二个负调控区的 C-509T 位点的多态性主要决定 TGF- β_1 基因的下调。我们通过采集壮族工人外周血液提取 DNA, 用 PCR-RFLP 技术检测 C-509T 位点的多态性, 观察壮族人群中 C-509T 位点的多态性与矽肺的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

以广西某矿壮族工人为研究对象。在不吸烟、不合并肺结核、确诊矽肺患者中选取 51 例为矽肺组。另选择 58 名长期接触矽尘未患 CWP 壮族工人为接尘组, 该矿无接触矽尘的壮族健康人员 30 人为正常对照组, 人员纳入遵循随机原则。

收稿日期: 2011-08-02

基金项目: 广西自然科学基金资助项目 (2010GXNSFA013234)

作者简介: 周武旺 (1964—), 男, 主管检验师, 主要从事职业病临床检验工作。

通讯作者: 陈晶, E-mail: chenjing_gxmu@gmail.com.

研究对象均为男性, 无吸烟, 无慢性肝炎等既往病史, 近一个月内无肺部其他疾病史。

1.2 试剂及仪器

血液基因组 DNA 提取试剂盒, 2* Taq PCR MasterMix, 均购自天根生化科技有限公司; 引物合成由生工生物工程 (上海) 有限公司; 限制性内切酶 Eco81 I 由宝生物工程 (大连) 有限公司提供; 主要仪器有 Eppendorf, Mastercycler[®] 5333 原位 PCR 仪, Bio-Rad, el Dox XR 凝胶成像系统。

1.3 方法

1.3.1 样品采集 采集所有研究对象的外周血 2 ml, EDTA 抗凝, 使用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 所有操作按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 TGF- β_1 基因 C-509T 位点的多态性分析 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 方法进行检测。引物信息参照文献 [1], 其上游引物序列为 5'-GGGGACAC-CATCTACAGTG-3', 其下游引物序列为 5'-GGAGGAGGGGGCA-ACAGG-3'。PCR 反应体系为 25 μl , 包括 ddH₂O 9.5 μl , 2* Taq PCR MasterMix 12.5 μl , 上下游引物各 0.5 μl , DNA 模板 2 μl 。PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 62.5 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 共 30 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。酶切体系为 15 μl , 包括 ddH₂O 5.2 μl , 10* buffer 1.5 μl , 内切酶 Eco81 I 0.15 μl (15 U), PCR 产物 8 μl 。体系混匀后 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育过夜。酶切产物经 3% 琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像系统拍照并判读基因。

1.4 统计方法

采用 SPSS15.0 软件对所得数据进行分析。所得行乘列表采用卡方分析, 若表格中有 1/5 频数小于 5, 则采用确切概率法计算。显著水平以双侧 $P = 0.05$ 判断。

2 结果