

多种基改剂工作曲线法与标准加入法测定尿镉的比较

Comparison of various matrix modifier working curve method and standard addition method for determination of urinary cadmium

耿琪，曾东，秦文华

(河南省职业病防治研究院，河南 郑州 450052)

摘要：采用石墨炉原子吸收光谱法，分别以工作曲线法和标准加入法选择多种基体改进剂测定尿中镉的含量。选用 0.1%PdCl₂/0.2%Mg(NO₃)₂ 为基体改进剂，方法检出限为 0.052 μg/L，相对标准偏差为 0.66%~1.05%，标准物质测定误差在允许范围之内。提示选用 0.1%PdCl₂/0.2%Mg(NO₃)₂ 为基体改进剂测定尿中镉含量，操作简单，精密度、准确度高，灵敏度高，值得广泛推广。

关键词：基体改进剂；尿镉；方法比较

中图分类号：R446.12 **文献标识码：**B

文章编号：1002-221X(2015)03-0225-03

DOI：10.13631/j.cnki.zgggxx.2015.03.028

人体内吸收的镉主要经肾脏由尿液排出，因此尿镉的测定被认为是良好的生物接触指标^[1-3]。目前测定尿镉使用最多的是石墨炉原子吸收光谱法(WS/T32—1996)，其中基体改进剂的选择对于测定结果的准确度和灵敏度至关重要。本文使用工作曲线法和标准加入法比较了多种基体改进剂的测定结果。结果显示，以 0.1%PdCl₂/0.2%Mg(NO₃)₂ 为基体改进剂，效果良好，能有效消除尿液中的基体干扰；且标准加入法比工作曲线法测定结果更加准确。

1 材料和方法

1.1 仪器与工作条件

AA 800 型原子吸收光谱仪，带有 THGA 型石墨炉、AS-800 型自动进样器、平台石墨管(美国 PerkinElmer 公司)；镉空心阴极灯(美国 PerkinElmer 公司)。分析波长 228.8 nm，灯电流 4 mA，光谱通带 0.7 nm，进样量 20 μL。高纯氩气流

速 250 ml/min。石墨炉采用光学控温仪控温，采用峰面积积分记录数据。石墨炉升温程序见表 1。

表 1 石墨炉升温程序

阶段	升温方式	温度(℃)	时间(s)	气流
干燥	斜坡	110~130	30	正常
	保持	130~130	30	正常
灰化	斜坡	130~450	10	正常
	保持	450~450	20	正常
原子化	阶梯	1600	8	停气
清除	阶梯	2450	3	正常

1.2 试剂、标准溶液与标准物质

1.2.1 试剂 实验用硝酸为优级纯试剂，水为去离子水。

1.2.2 标准溶液 (1) 1000 μg/ml 镉单元素标准溶液；(2) 国家标准样品 GSB04-1721-2004，国家有色金属及电子材料分析测试中心生产；(3) 10.0 μg/L 镉标准应用液；将 1000 μg/L 镉单元素标准溶液用 1%硝酸溶液逐级稀释即可。

1.2.3 标准物质 (1) 国家标准质量控制物质 ZK018-1：(5.1±0.9) μg/L 冻干人尿镉质控样品；(2) 国家标准质量控制物质 ZK018-2：(15.0±2.6) μg/L 冻干人尿镉质控样品。

1.3 测定方法

1.3.1 工作曲线的配制 按表 2 配制，此标准系列镉浓度为 0.00、0.50、1.00、1.50、2.00、3.00、5.00 μg/L。在优化好的仪器条件下，每个浓度测定 3 次，以吸光度对镉浓度绘制工作曲线。

表 2 工作曲线的配制

	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆
标准系列镉浓度(μg/L)	0.00	0.50	1.00	1.50	2.00	3.00	5.00
10 μg/L Cd 应用液(ml)	0.000	0.050	0.100	0.150	0.200	0.300	0.500
正常人混合尿样(ml)	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
基体改进剂(ml)	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
1%硝酸溶液(ml)	0.700	0.650	0.600	0.550	0.500	0.400	0.200

1.3.2 样品测定 除不加镉标准应用液之外，其余按与工作曲线相同的方法配制。在设定好的仪器条件下测定镉吸光度值，每个浓度测定 3 次。根据工作曲线和稀释倍数计算尿样中镉的实际浓度。

2 结果

2.1 不同基体改进剂的实验指标比较

2.1.1 相关系数、检出限 由表 3 可见，采用的 7 种基体改进剂的工作曲线线性相关系数、灵敏度和检出限有较大差别。用 0.1%PdCl₂/0.2%Mg(NO₃)₂/1%HNO₃ 作为基体改进剂时，相关系数和方法检出限均优于其他几种基体改进剂。

2.1.2 不同基体改进剂对精密度(RSD)的影响 用 0.1%

收稿日期：2014-12-01；修回日期：2015-04-09
作者简介：耿琪(1983—)，女，主管技师，硕士，主要从事生物样品和理化检验工作。

表 3 不同基体改进剂测定指标

基体改进剂(均加 1% HNO_3)	线性方程	相关系数	检出限($\mu\text{g/L}$)
1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	$A=0.051\ 87x+0.002\ 69$	0.998 9	0.069
10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	$A=0.050\ 59x+0.003\ 13$	0.997 6	0.085
0.1% PdCl_2	$A=0.053\ 19x+0.002\ 18$	0.999 4	0.062
0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	$A=0.050\ 40x+0.001\ 73$	0.998 4	0.076
0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	$A=0.054\ 82x+0.001\ 21$	0.999 8	0.052
0.1% PdCl_2 /1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	$A=0.053\ 79x+0.002\ 58$	0.999 5	0.067
0.1% PdCl_2 /10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	$A=0.052\ 50x+0.002\ 82$	0.998 7	0.073
无基体改进剂	$A=0.044\ 77x+0.002\ 21$	0.996 7	0.116

PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ /1% HNO_3 作为基体改进剂时,测定精密密度优于其他改进剂。见表 4。

表 4 不同基体改进剂测定精密密度(RSD)结果 ($n=11$)

基体改进剂 (均加 1% HNO_3)	试剂空白	1 $\mu\text{g/L}$ Cd 标准	5 $\mu\text{g/L}$ Cd 标准
1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	2.53	1.75	1.76
10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1.95	1.42	1.34
0.1% PdCl_2	1.87	1.15	1.23
0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	2.12	1.64	1.55
0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	1.05	0.71	0.66
0.1% PdCl_2 /1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1.22	0.92	0.84
0.1% PdCl_2 /10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1.56	1.05	1.12

2.1.3 不同基体改进剂对回收率的影响 用 0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ /1% HNO_3 作为基体改进剂时,测定回收率优于其他改进剂。见表 5。

表 5 不同基体改进剂测定回收率结果 ($n=6$)

基体改进剂 (均加 1% HNO_3)	本底值 ($\mu\text{g/L}$)	加标量 ($\mu\text{g/L}$)	测定均值 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)
1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1.00	1.00	1.92	92
10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1.00	1.00	1.91	91
0.1% PdCl_2	1.00	1.00	1.95	95
0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	1.00	1.00	1.90	90
0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	1.00	1.00	1.98	98
0.1% PdCl_2 /1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1.00	1.00	1.96	96
0.1% PdCl_2 /10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	1.00	1.00	1.95	95

2.1.4 不同基体改进剂测定国家标准质量控制物质的影响 根据表 3~表 5 的结果,优选出 3 种基体改进剂测定 ZK018-1 和 ZK018-2 两种质控样,用 0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ /1% HNO_3 作为基体改进剂时,测定结果更接近真值,更准确。见表 6。

表 6 不同基体改进剂测定国标质控物质结果 ($n=6$)

$\mu\text{g/L}$

基体改进剂(均加 1% HNO_3)	ZK018-1		ZK018-2	
	给定值	测定均值	给定值	测定均值
0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	5.1 $\pm$ 0.9	4.6	15.0 $\pm$ 2.6	14.4
0.1% PdCl_2 /1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	5.1 $\pm$ 0.9	4.5	15.0 $\pm$ 2.6	14.2
0.1% PdCl_2 /10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	5.1 $\pm$ 0.9	4.4	15.0 $\pm$ 2.6	13.9

2.2 工作曲线法与标准加入法测定同一样品的结果比较
根据 2.1.4 中优选出的 3 种基体改进剂分别以工作曲线法和标准加入法测定 ZK018-1 和 ZK018-2 两种质控样,由表 7

见,使用同一种基体改进剂时,标准加入法比工作曲线法的测定结果更接近真值。

表 7 不同基体改进剂两种方法测定国标质控物质结果 ($n=6$)

$\mu\text{g/L}$

基体改进剂(均加 1% HNO_3)	ZK018-1		ZK018-2	
	工作曲线测定值	标准加入测定值	工作曲线测定	标准加入测定
0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	4.6	4.8	14.4	14.7
0.1% PdCl_2 /1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	4.5	4.6	14.2	14.4
0.1% PdCl_2 /10% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	4.4	4.5	13.9	14.2

2.3 历年考核测定情况

近几年,我们在中国疾病预防控制中心尿镉检测能力验证或盲样考核工作中,在使用工作曲线测定的同时,以标准加入法进行比较,多次测定的结果均在合格范围内。见表 8。

表 8 历年考核尿镉测定结果(部分)

年份	标准加入法	工作曲线法	合格范围	考核结果
2011	8.05	7.95	7.45~9.65	合格
2012	10.67	10.45	9.85~12.45	合格
2013	4.62	4.42	4.12~5.92	合格

3 讨论

由于很多生物样品中金属含量的国标测定方法是多年前研制,方法中存在需要改进的方面,本法改进尿中镉含量测定的国标方法,优化了基体改进剂的种类,使用 0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 作为基体改进剂,使实验方法灵敏度、检出限、精密度、准确度等都有较大改善,为改进生物样品中金属含量测定方法提供了技术支撑。

本方法以 0.1% PdCl_2 /0.2% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 作为基体改进剂,
(下转第 231 页)

胞数量减少影响的研究, 并采用 Meta 分析方法探讨了职业性苯暴露对工人外周血白细胞数量减少的风险, 纳入文献样本含量大, 能克服研究者因研究对象的选择、方法和设计等不同而导致的研究结果差异, 可定量全面评估职业性苯暴露对工人外周血白细胞数量减少的影响, 采用可靠的统计分析方法, 获取较可信的推断。

本次 Meta 研究显示纳入文献存在异质性, 通过随机效应模型分析, 显示职业性苯暴露工人白细胞数量减少的风险是对照组的 3.44 倍, 敏感性分析显示了此次研究结果具有较好稳定性, 并用 Begg 和 Egger 法检验排除了纳入的 17 篇文献具有明显发表偏倚。在执行我国现行国家职业卫生标准的前提下, 建议涉苯用人单位及接触工人加强预防保健措施, 保护接苯工人的身体健康; 改进生产工艺、改善工作场所环境、以低毒无毒物料代替苯, 并使生产过程密闭化或自动化, 避免苯的直接暴露, 从源头消除苯的健康危害, 加强工作场所空气中苯的日常监测; 加强工人职业卫生和个人防护培训, 提高自我保护意识; 积极开展职业健康监护, 以期早发现、早诊断、早治疗苯中毒。

此次 Meta 分析亦有局限性, 虽对文献进行了严格筛选, 但纳入文献质量不尽相同, 研究跨越年限较长, 因此, 其研究结果不排除会受到一些未知因素的影响。另外, 涉苯行业的工作场所可能会有少量甲苯、乙苯或二甲苯的存在, 其对苯暴露工人健康产生直接或间接影响, 难免产生一定程度偏倚。且本次研究只检索了中文文献, 未就苯职业性暴露与工人外周血白细胞数量减少分析剂量-反应关系。

参考文献:

- [1] 夏昭林, 陈千平, 洪宁, 等. 苯作业工人白细胞降低者的总估校正现患率 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1994, 12 (5): 375-376.
- [2] 高梅, 章娅琳, 闻凤霞. 苯、苯酚对作业工人健康影响的调查 [J]. 工业卫生与职业病杂志, 1995, 21 (5): 286-287.
- [3] 史玉刚, 姚玉春, 刘秀华. 混苯作业工人血白细胞 10 年动态观察 [J]. 中国工业医学杂志, 1997, 10 (1): 27-28.

(上接第 226 页)

比较了工作曲线法和标准加入法测定同一个样品的差别, 发现标准加入法测定结果更准确, 这可能是因为虽然基体改进剂对于复杂的尿样基质进行了改善, 但是每一个尿样本身还是存在一定的差别, 由一条曲线进行大批量样品的分析还是会存在一定的误差。而标准加入法, 只针对单一尿样进行测定, 准确度更高也是合理的; 但是, 测定大批量样品时标准加入法又太复杂, 工作量太大。在可以满足要求的情况下批量样品仍采用工作曲线法来检测。

近几年参加的尿镉检测能力考核, 以工作曲线法和标准加入法进行分析测定的结果均在合格范围内, 说明两种方法均可以满足要求, 根据样品量大小可自行选择。

实际工作中有时工作曲线的线性会很差, 排除标准的问

- [4] 魏广建, 郑丽莉, 王俊明. 苯作业工人 178 名健康检查结果分析 [J]. 职业与健康, 2001, 17 (11): 19-21.
- [5] 周华. 苯作业工人血象检查结果分析 [J]. 职业与健康, 2002, 18 (2): 33-34.
- [6] 段小燕, 余善法, 杨金龙, 等. 长期接触低浓度苯、甲苯、二甲苯对作业工人健康影响的调查 [J]. 工业卫生与职业病, 2003, 29 (1): 45-49.
- [7] 伍郁静, 杜伟佳. 某皮鞋厂制鞋工人血象改变的原因分析 [J]. 华南预防医学杂志, 2004, 30 (1): 54-56.
- [8] 张新化, 杨龙强. 长期接触低浓度混苯对作业工人健康的影响 [J]. 职业与健康, 2006, 22 (18): 1447-1450.
- [9] 倪春苗, 周晓红, 戴燕卫. 某油漆厂工人血象改变情况调查 [J]. 环境与职业医学, 2007, 24 (2): 236-237.
- [10] 徐宏伟, 侯淑媛. 苯及苯系物接触人员白细胞减少影响因素分析 [J]. 职业卫生与应急救援, 2007, 25 (3): 129-132.
- [11] 周红妹, 黄小虎. 胶黏剂对作业工人血液系统影响的调查 [J]. 中国职业医学, 2008, 35 (5): 445-449.
- [12] 郭集军, 梁晓阳, 邓慈喜. 职业性苯暴露工人外周血白细胞的变化 [J]. 职业卫生与应急救援, 2008, 26 (3): 149-151.
- [13] 查建溪, 林惠芳, 张巧红, 等. 低浓度苯系物对作业工人的健康影响 [J]. 职业与健康, 2010, 26 (16): 1828-1829.
- [14] 段穗芳, 董勤, 曹晓鸥, 等. 50 家制鞋企业工人白细胞计数和血红蛋白定量检查结果分析 [J]. 工业卫生与职业病, 2010, 36 (1): 35-37.
- [15] 孙金艳, 黄德寅. 石化企业质检工人苯职业暴露的健康效应 [J]. 环境与健康杂志, 2012, 29 (12): 1132-1133.
- [16] 蔡培. 某石化企业苯作业岗位员工血细胞情况分析 [J]. 中外医疗, 2013, 32 (25): 41-42.
- [17] 王胜利, 刘仁平, 茅辉军, 等. 某工业园区接触工业用混苯工人健康状况及接触水平 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2013, 31 (11): 846-848.
- [18] 刘弢, 张传会, 张鹏. 苯系物与噪声联合暴露对听力影响的 Meta 分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2012, 30 (10): 769-772.

题之后可能是遭到了镉污染; 样品空白吸光度值很高, 可能是进样杯或是微量移液器吸头被污染; 因此, 实验中使用的任何器具都要预先用 1:1 硝酸溶液浸泡过夜, 再用自来水、去离子水清洗干净; 实验中使用的硝酸、尿杯等每个批次都要进行空白检验, 检验合格方能使用。

参考文献:

- [1] 李凭建, 汪再娟. 石墨炉原子吸收光谱法测定尿镉 4 种方法的探讨 [J]. 中国公共卫生, 2000, 16 (9): 838.
- [2] 韦义拢, 欧松. 石墨炉原子吸收法测定尿中镉的基体改进剂优化 [J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23 (6): 1611-1612.
- [3] 梁启荣, 黄才千, 黄家乐, 等. 某金属冶炼厂作业工人尿镉水平及其相关因素分析 [J]. 现代医药卫生, 2013, 29 (14): 2233-2234.