

微波消解—双道原子荧光光谱法同时测定血中的汞和砷

杨福成，裴雯

(重庆市职业病防治院，重庆，400060)

汞、砷都是对人体毒性很大的元素，近年来由于职业和误服等各种原因所引起的汞、砷中毒时有发生。生物材料中汞含量测定为急性汞中毒诊断及鉴别诊断最可靠依据，血汞在摄入汞后迅速升高，可作为诊断的可靠指征；砷接触者，血砷、尿砷增高可作为病因学诊断的参考指标^[1]。目前，汞和砷常见的分析方法主要有比色法，分光光度法，原子吸收法等。这些方法均存在操作复杂，分析时间长，灵敏度低，特别是样品处理繁琐且待测元素易损失等缺点。微波消解是一种崭新的样品预处理技术，已成功应用于多个领域的样品处理^[2,3]。本文采用一次性微波消解—氢化物发生原子荧光光谱法同时测定血中汞、砷，具有取样品量少，操作简单，时间短、试剂用量少，灵敏度和准确度高等优点。

1 材料与方法

1.1 仪器

AFS—230E型双道原子荧光光度计(北京海光仪器公司)；汞、砷编码空心阴极灯(北京有色金属研究总院)；MDS—6型温压双控微波消解仪，ECH—1型电子控温加热板(均为上海新仪微波化学科技有限公司)。

1.2 试剂

1.2.1 硝酸、盐酸均为优级纯；高氯酸、硼氢化钾、氢氧化钠、硫脲、抗坏血酸为分析纯；试验用水为去离子水(电阻为18.24M Ω)；实验所用器皿需经1+1硝酸浸泡过夜后洗净待用。

1.2.2 混合还原剂(100g/L硫脲和100g/L抗坏血酸) 10g硫脲加约80ml水，加热溶解，待冷却后加入10g抗坏血酸，加水至100ml，储存在棕色瓶中，可保持一个月。

1.2.3 20g/L硼氢化钾溶液 称取2g氢氧化钠溶解于水中，加入8g硼氢化钾，加水稀释至400ml。

1.2.4 稀释液 1+1盐酸

1.2.5 载流液 5%(V/V)盐酸

1.2.6 汞、砷标准贮备液 汞1000 μ g/ml(GBW08617)、砷1000 μ g/ml(GBW08611)均为国家标准物质中心提供。汞、砷标准应用液：临用前将汞、砷标准贮备液分别用5+95盐酸逐级稀释，最后稀释为含汞100 μ g/L、砷500 μ g/L的混合标准应用液。

1.3 实验方法

1.3.1 样品的采集 依次用 3% (V/V) 硝酸溶液、去离子水、碘酒、75%酒精清洗皮肤，用通过检验的同一批号的一次性注射器抽取静脉血 0.5~1.5ml，立即盛于通过检验的肝素抗凝瓶中混匀。

1.3.2 试样预处理 准确吸取 0.25~0.50ml 混匀样品于微波消解系统配备的聚四氟乙烯溶样杯中，加入 3ml 硝酸，0.3ml 高氯酸，1.5ml 水混匀，密闭后置于微波消解炉中，同时做两个试剂空白。微波消解条件见表 1。消解完成后，让消化罐于室温下自然冷却，卸压，取出内杯置于电子控温加热板上，130℃ 以下赶酸至近干。冷却后用适量水多次将消解液转移至 10ml 具塞比色管中，加入 1+1 盐酸 1.0ml，混合还原剂 1.0ml，再用水定容至刻度，混匀。室温放置 30min 后测定。

表 1 微波消解条件

步骤	压力 (Mpa)	时间 (min)	功率 (W)
1	0.3	2	400
2	0.6	2	600
3	1.0	4	600
4	1.4	5	600

1.3.3 汞、砷标准系列的配制 取 1 只 100ml 和 5 只 25ml 的容量瓶，分别加入汞、砷混合标准应用液 0.00, 0.10, 0.20, 0.50, 1.00, 1.50ml，再分别向 5 只 25ml 容量瓶中加入 1+1 盐酸 2.5ml，混合还原剂 2.5ml，100ml 的容量瓶中加入 10ml 1+1 盐酸，10ml 混合还原剂，最后用水定容混匀，室温放置 30min 后测定。定容后汞 (砷) 标准系列分别为 0.00 (0.00), 0.40 (2.0), 0.80 (4.0), 2.0 (10.0), 4.0 (20.0), 6.0 (30.0) $\mu\text{g/L}$ 。

1.4.4 仪器工作参数 见表 2

2 结果与讨论

2.1 仪器参数的选择 光电倍增管负高压和灯电流的增大均能增大荧光强度，但过高的负高压会产生较大的噪声，影响测定重现性。灯电流越大，灵敏度越高，但灯电流大会降低灯的使用寿命，通过实验本文选择负高压为 270V，灯电流汞为 30mA，砷为 60mA 时，可以得到很好的线性及灵敏度。载气流量过大会稀释原子浓度，降低灵敏度，过小难以将气体混合物迅速带出，本文选用 400ml/min 载气流速，1000ml/min 屏气流速。

表 2 仪器工作参数

项目	仪器参数	项目	仪器参数
负高压 (V)	270	载气流量 (ml/min)	400
原子化器温度 (°C)	200	屏蔽气流量 (ml/min)	1000
原子化器高度 (mm)	8	读数时间 (S)	10
汞灯电流 (mA)	30	延迟时间 (S)	1
砷灯电流 (mA)	60	重复次数	1
读取方式	Peak Area	采样及注入泵速 (r/min)	100
测量方式	Std. Curve		

2.2 样品消解条件的选择 由于血液样品成分复杂, 有机物含量多, 常压下用酸不易被消解完全, 特别是汞元素易损失。微波消解是近年来新出现的样品消解手段, 其特点是时间短, 试剂用量少, 无污染, 元素不易损失等优点。由于过氧化氢与血液样品产生大量泡沫, 因此采用硝酸—高氯酸混酸消解。经试验, 本文方法消解 0.25~0.50ml 血液样品, 最后消解液呈无色透明液体。电热板赶酸时, 温度不能过高 (以 130°C 左右为宜), 以防汞损失, 同时应将样品消化后的余酸赶尽, 以防硝酸氧化以后加入的硫脲和抗坏血酸。

2.3 盐酸浓度的选择 氢化物反应要有一定的酸度, 当盐酸浓度在 2%~20% 时, 汞、砷的荧光强度变化不大, 但盐酸浓度低于 2% 时, 荧光强度显著降低, 在 5% 盐酸介质中测定汞、砷混标系列线性良好。

2.4 硼氢化钾浓度的选择 实验发现, 硼氢化钾浓度低于 10g/L 时, 汞测定荧光强度高, 而砷荧光强度较低, 这主要由于汞只需要还原为气态, 不需生成氢化物, 而砷需生成气态氢化物才能被载气带入原子化器, 而过高的硼氢化钾产生大量氢气, 稀释了汞蒸气和氢化物浓度而使灵敏度下降。本文选择 20g/L 的浓度时, 汞和砷均可达到满意结果。

2.5 方法的线性范围及检出限 本实验条件下线性范围: 汞 0.0~6.0 $\mu\text{g/L}$, 回归方程 $Y=540.2X-15.96$, 相关系数 $r=0.9992$, 砷 0.0~30.0 $\mu\text{g/L}$, 回归方程 $Y=146.6X-21.74$, 相关系数 $r=0.9998$ 。检出限: 对试剂空白连续进行 11 次荧光强度测定, 其检测限按 $DL=3SD/K$ 计算出汞、砷的检出限分别为 0.0096、0.042 $\mu\text{g/L}$, 以 0.50ml 样品消解定容至 10ml, 样品最低检出浓度为汞 0.19 $\mu\text{g/L}$, 砷 0.84 $\mu\text{g/L}$ 。

2.6 精密度实验 分别对含汞 0.4、2.0 $\mu\text{g/L}$; 含砷 2.0、10.0 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液按本方法连续 11 次进样, 进行精密度实验, 结果见表 3, 有表 3 可知汞、砷的相对标准偏差分别为 1.58%~2.03%、0.51%~

0.92%。

表 3 精密度实验

元素	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	荧光强度											RSD (%)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		均值
Hg	0.4	172.4	176.7	177.6	173.5	179.9	174.7	177.9	180.3	179.2	175.3	180.3	177.1	1.58
	2.0	1044.2	1015.6	1028.3	1054.2	1064.1	1027.9	1064.9	1023.7	1076.1	1064.7	1069.2	1048.4	2.03
As	2.0	269.6	268.5	270.3	267.1	270.5	265.7	264.8	263.5	264.6	267.8	269.2	267.4	0.92
	10.0	1462.7	1449.5	1457.3	1447.6	1469.1	1445.9	1452.3	1453.7	1461.5	1459.2	1463.7	1456.6	0.51

2.7 回收率实验 应用本法对样品进行加标回收试验，在线性范围内，对同一样品加入低、中、高三种浓度的汞、砷标准溶液进行回收试验，结果见表 4。

表 4 样品加标回收试验

元素	本底值 ($\mu\text{g/L}$)	加标量 ($\mu\text{g/L}$)	测得值 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
Hg	1.12	0.40	1.53	102.5	105.2
		2.0	3.27	107.5	
		4.0	5.34	105.5	
As	6.54	2.0	8.51	98.5	98.3
		10.0	16.50	99.6	
		20.0	25.9	96.8	

2.8 样品的稳定性实验 取汞、砷接触者的混合血样，分成 4 组，每组 6 份，当天测定 1 组，其余在 4℃ 冰箱中保存，分别于第 3、7、14 天各测定 1 组，计算各组均值与当天测定均值的比较，结果见表 5，各相对偏差均在 10% 以内，说明样品于 4℃ 冰箱中可保存 14 天。

表 5 样品的稳定性实验

保存时间	样本数	汞		砷	
		测定均值 ($\mu\text{g/L}$)	相对偏差 (%)	测定均值 ($\mu\text{g/L}$)	相对偏差 (%)
当天	6	32.6	—	56.3	—
第 3 天	6	32.1	1.53	55.7	1.07
第 7 天	6	31.7	2.76	54.8	2.66
第 14 天	6	30.3	7.06	52.6	6.57

2.9 方法的应用 采用本方法测定了汞、砷接触者血样各 15 例，正常人群血样 17 例，结果见表 6，测定结果与实际样品相符合。

表 6 方法的应用

样品类别	例数	汞		砷	
		测定范围 ($\mu\text{g/L}$)	测定均值 ($\mu\text{g/L}$)	测定范围 ($\mu\text{g/L}$)	测定均值 ($\mu\text{g/L}$)
接触者	15	4.35~48.36	33.72	23.56~87.48	47.23
正常人群	17	0.36~2.82	1.29	1.56~6.34	2.76

3 小结

微波消解—氢化物发生原子荧光光谱法同时测定血液中汞和砷，具有操作简便、快速、灵敏、准确度和精密度高、易挥发元素损失少，污染小，消化完全等优点，值得推广应用。

参考文献

- [1] 何凤生主编. 中华职业医学[M]. 北京：人民卫生出版社，1999：236-238，345
- [2] 徐伯洪，闫慧芳 工作场所有害物质监测方法[M]. 北京：中国人民公安大学出版社，2003：341-342
- [3] 李淑花，王保成 连续测定化妆品中微量汞、砷、铅的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志. 2006，16（4）：448-449

通讯地址：重庆市南岸区南城大道 301 号，重庆市职业病防治院
邮编：400060

作者简介：杨福成（1965—），男，副主任技师，主要从事卫生理化检验工作 23 年。联系电话：13638244081

国家级杂志公开发表：于《中国工业医学杂志》2008 年 6 月，第 21 卷 第 3 期 “监测与检验”专栏 196-198 页上公开发表。