

石墨炉原子吸收光谱法测定血铅方法的改进

白国银¹, 王淳阅², 李丽丽¹, 邱兵¹, 王妍¹, 祁妍敏¹, 陈振玲¹

摘要: [目的]改进石墨炉检测低浓度血铅国标方法,对测定结果进行不确定度评定。[方法]应用0.20%硝酸和0.10%曲拉通X-100混合溶液作为稀释剂,0.10%硝酸钯和0.06%硝酸镁作为基体改进剂,参考仪器推荐测定条件,应用AA-900T石墨炉原子吸收分光光度计测定血中铅。对所建立的方法进行检出限及定量下限等方法学验证,并应用国家标准物质对准确度进行评定。[结果]结果显示:检出限为0.84 μg/L;定量下限为2.80 μg/L;线性范围为2.80~200.00 μg/L;血铅浓度为100.00 μg/L时相对标准偏差为1.24%;对国家标准物质进行测定,检测结果为112.10 μg/L,落在其标准值及不确定度范围之内[(120.00 ± 15.00) μg/L]。[结论]所建立的血铅检测方法各项确认参数符合要求,方法的不确定性在容许范围内。

关键词: 原子吸收光谱法;血铅;不确定度

Improvement on Determination of Lead in Blood by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry
BAI Guo-yin¹, WANG Chun-yue², LI Li-li¹, QIU Bing¹, WANG Yan¹, QI Yan-min¹, CHEN Zhen-ling¹ (1.Civil Aviation Medical Center of Civil Aviation Administration of China, Beijing 100123, China; 2.Department of Medical Oncology, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Fujian 361003, China). Address correspondence to CHEN Zhen-ling, E-mail: zhlchen9898@yahoo.com.cn · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To improve a method on determination of lead in blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry and to estimate the uncertainty of the application. [Methods] Mixed solution containing 0.20% nitric acid and 0.10% Triton X-100 was used as diluent, and mixed solution containing 0.10% palladium nitrate and 0.06% magnesium nitrate was used as matrix modifier. Referring to the recommended instrument measuring conditions, an AA-900T graphite furnace atomic absorption spectrophotometer was applied to determine lead in blood. The limits of detection and the lower limit of quantification of the proposed revised measurement were estimated. The accuracy were determined by national standard reference material. [Results] The detection limit was 0.84 μg/L and the quantification lower limit was 2.80 μg/L. The linear range was 2.80-200.00 μg/L, and the relative standard deviation was 1.24% for blood lead at 100.0 μg/L. The concentration of the national standard reference material was 112.10 μg/L and within the required uncertainty range of (120.00 ± 15.00) μg/L. [Conclusion] All parameters of the proposed method meet the requirement of the national clinic laboratory technique guideline. The estimated uncertainty of the method falls within the acceptable range.

Key Words: atomic absorption spectrometry; blood lead; uncertainty of measurement

铅是一种常见的环境污染物,其对人体有多种较为严重的危害。国外也对血铅检测展开了相关研究^[1]。长期低浓度铅暴露对人体的健康危害包括认知功能障碍^[2]、肾损伤等^[3]。目前,国产100号航空汽油的含铅量约为国外100LL航空汽油的4倍,飞行人员有可能暴露在含铅量较高的环境中,然而国内缺少对飞行人员的血铅检测,仅有周林甫等^[4]的相关研究发现,飞行人员血铅浓度约为70 μg/L。为保证飞行人员的身体健康,避免铅对该职业人群的危害,建立低浓度血铅检测方法

的准确性和及时开展对飞行人员的血铅浓度监测至关重要。

应用石墨炉原子吸收光谱法测定血铅有多种处理方法,如曹丽玲等^[5]应用高温灰化法进行样品前处理,夏卫文等^[6]采用湿法消解的方法进行样品前处理,但此两种方法均较为繁琐,面对大样品量检测时并不方便。卫生部制定的行业标准WS/T 174—1999《血中铅、镉的石墨炉原子吸收光谱测定方法》通过添加一定浓度的硝酸除去血中蛋白,经高速离心沉淀后直接上机测定,此法省去样品消解的时间,但需要万转离心机离心,取血量相对较多,同时由于有机质分离不完全,实际操作性不强^[6],且由于没有加基体改进剂,灰化温度超过500℃时铅有较多损失,在干燥、灰化过程易发生“喷跳”现象。李芳^[7]、谢维平等^[8]为了消除基体干扰,提高样品灰化原子化温度,加入基体改进剂进行血铅测定,常用的基体改进剂有磷酸二氢铵、抗坏血酸、曲拉通X-100、硝酸镁等,添加基体改进剂后直

[基金项目]北京市自然科学基金资助项目(编号:2122060)

[作者简介]白国银(1985—),男,硕士,研究实习员;研究方向:职业卫生与环境健康;E-mail: baiyinok@gmail.com

[通信作者]陈振玲助理研究员, E-mail: zhlchen9898@yahoo.com.cn

[作者单位]1.中国民用航空局民用航空医学中心(民航总医院),北京100123;2.厦门大学附属第一医院肿瘤内科,福建361003

接上机进行测定。本研究拟探索石墨炉原子吸收光谱测定血铅的改进方法。

1 材料与方法

1.1 仪器

AA-900T 原子吸收分光光度计(新加坡 Perkin-Elmer 公司), 超纯水系统: milli-Q Advantage A10(美国 millipore 公司)。

1.2 试剂

本研究用水为 millipore 超纯水,符合 GB/T 6682—2008《分析实验室用水规格和试验方法》中一级水要求。铅标准溶液: 1000 mg/L(GBW08619), 国家标准物质中心。标准物质: 冻干牛血铅、镉成份分析标准物质(GBW09139), 均由中国疾病预防控制中心提供。硝酸(优级纯), 北京化工厂产品。曲拉通 X-100(分析纯), 北京全新拓达科技有限公司产品。硝酸钡(新加坡 PerkinElmer 公司): 10000 mg/L。牛血: 自购低本底牛血, 肝素抗凝, -20 保存, 用时放至室温摇匀。

1.3 分析步骤

(1) 稀释剂: 0.20%(体积分数)硝酸和 0.10%(体积分数)曲拉通 X-100 混合溶液: 将 20 μL 的硝酸加入到 10 mL 纯水中, 再加入 10 μL 的曲拉通 X-100, 充分振摇混匀。(2) 基体改进剂: 950 μL 纯水 + 50 μL 硝酸钡(10 g/L) + 10 μL 硝酸镁(6%), 充分振摇混匀, 即配置成 0.10% 硝酸钡 + 0.06% 硝酸镁的基底液。(3) 标准溶液配制: 将 1000 μg/mL 铅单元素溶液标准物质用 1% 硝酸溶液稀释成 50.00 μg/mL 标准中间液, 再用 1% 硝酸溶液配成浓度为 0.00、1.25、2.00、2.50、4.00、5.00 μg/mL 标准应用溶液系列。再用牛血为底液分别配制浓度为 0、50、80、100、160、200 μg/L 的血铅标准工作曲线溶液系列。(4) 血铅标准工作曲线溶液系列的处理: 血铅标准工作曲线系列分别取出 100.0 μL 置于 1.5 mL 具塞聚乙烯离心管内, 各加入 900.0 μL 稀释剂, 充分振摇混匀。(5) 样品的处理: 将冷冻血样取出, 恢复到实验室温度。充分振摇混匀, 取出 100.0 μL 置于 1.5 mL 具塞聚乙烯离心管内, 加入 900.0 μL 稀释剂, 充分振摇混匀。(6) 检测条件: 波长 283.31 nm, 光谱通带 0.7 nm, 灯电流 8 mA, 峰面积积分方法, 积分时间 5 s, 氩气流量 250 mL/min, 进样量 20 μL, 基体改进剂 5 μL, 石墨炉升温程序见表 1。

表 1 石墨炉升温程序

名称	温度()	升温时间(s)	保持时间(s)	氩气流量(mL/min)
预干燥温度	110	5	30	250
干燥温度	130	15	30	250
灰化温度	850	10	20	250
原子化温度	1800	0	5	250
净化温度	2450	1	3	250

2 结果

2.1 检出限及定量下限

根据《血铅临床检验技术规范》中的规定, 方法检出限是可以确知被检出的最低浓度, 血铅测定方法的检测限为空白测定值标准偏差的 3 倍。方法定量检测限是在给定的置信水平区间内可报告样品准确定量的最低浓度, 血铅检测定量下限为空

白测定值标准偏差的 10 倍。本检出限为测定 11 次试剂空白标准偏差的 3 倍, 为 0.84 μg/L, 定量下限为 2.80 μg/L。本方法测定血铅含量线性范围为 2.80~200.00 μg/L 及其相关系数, 结果见图 1, 相关系数 > 0.999。

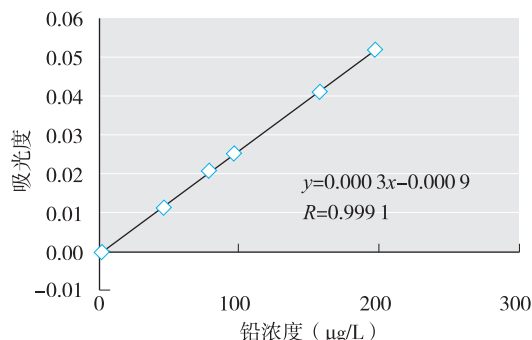


图 1 测定血铅含量标准曲线及相关系数

2.2 精密度

检测不同浓度血铅样品, 当浓度为 50、100、200 μg/L 时, 相对标准偏差分别为 14.77%、1.24% 和 1.69%(n=6), 均满足《血铅检验技术规范》中对精密度的要求。

2.3 准确度

选取标准物质冻干牛血铅、镉成份分析标准物质(GBW09139h)作为质控样品, 与待测物质采用相同的处理方法进行检测, 检测结果为 112.10 μg/L, 落在其标准值及不确定度范围之内[(120.00 ± 15.00) μg/L], 说明所建立的检测方法可靠, 满足检测需要。

2.4 不确定度

2.4.1 不确定度分量 根据测定原理, 其血中铅的计算公式为 $C = (C_s - C_0) \times F$, 式中: C—血铅浓度, μg/L; C_s —由标准曲线得稀释血样中铅浓度; C_0 —由标准曲线得试剂空白铅浓度; F—血样稀释倍数。由检测方法公式分析, 血铅测定结果的不确定度来源于: 分析仪器引入的不确定度; 光密度量化误差引起的不确定度分量的评定^[9]; 标准溶液的相对标准不确定度; 工作曲线的相对标准不确定度; 样品重复测定的相对标准不确定度。依据单文静等^[9]提供的计算方法, 得出本实验方法的不确定度结果(表 2)。

表 2 不确定度分量一览

不确定度来源	量值	标准不确定度	相对标准不确定度
分析仪器引入的不确定度		4.8%	2.45×10^{-2}
光密度量化误差引起的不确定度分量的评定	5.3×10^{-2}	5.80×10^{-4}	1.10×10^{-2}
样品重复测定引入的不确定度	119.8 μg/L	1.21 μg/L	1.01×10^{-2}
标准曲线拟合引入的不确定度	120.7 μg/L	5.49 μg/L	4.55×10^{-2}
铅标准溶液及配置引入的不确定度			1.92×10^{-2}
铅标准溶液的不确定度	1000 mg/L	2.00 mg/L	2.00×10^{-3}
1 mL 移液器引入的不确定度	1 mL	1.88×10^{-2} mL	1.88×10^{-2}
5 mL 移液管引入的不确定度	5 mL	9.50×10^{-3} mL	1.90×10^{-3}
10 mL 容量瓶引入的不确定度	10 mL	2.76×10^{-2} mL	2.76×10^{-3}
100 mL 容量瓶引入的不确定度	100 mL	6.88×10^{-2} mL	6.88×10^{-4}

2.4.2 合成不确定度 根据上述分量的计算结果,合成不确定度为:

$$\frac{U(C)}{C} = \sqrt{\left(\frac{u1}{v1}\right)^2 + \left(\frac{u2}{v2}\right)^2 + \left(\frac{u3}{v3}\right)^2 + \left(\frac{u4}{v4}\right)^2 + \left(\frac{u5}{v5}\right)^2}$$

$$= \sqrt{0.0245^2 + 0.011^2 + 0.0101^2 + 0.0455^2 + 0.0192^2} = 5.71 \times 10^{-2}$$

其中, $u1$ —分析仪器引入的不确定度, $u2$ —光密度量化误差引起的不确定度分量的评定, $u3$ —样品重复测定引入的不确定度, $u4$ —标准曲线拟合引入的不确定度, $u5$ —铅标准溶液及配置引入的不确定度, $v1 \sim v5$ —各不确定度量值。

$$U(c) = \frac{U(C)}{C} \times C = 0.0571 \times 120.7 = 6.9 \mu\text{g/mL}$$

2.4.3 扩展不确定度 扩展不确定度为合成不确定度和所选的包含因子相乘得到扩展不确定度。扩展不确定度给出一个期望区间,合理地赋予被测量的数值分布的大部分会落在此区间内。通常情况下,取包含因子 $k=2$,则其扩展不确定度为 $6.9 \times 2 = 13.8 \mu\text{g/mL}$ 。

3 讨论

通过实验证明,本方法的准确度、精密度均符合《血铅临床检验技术规范》的要求,样品不需要消解,简单稀释便可上机测定。此外,不确定度是实验室质控的重要环节,可度量结果的可信度以证明结果的适宜性,故参考宋为丽等^[10-11]对血铅不确定度评估的资料,简要评定了测定过程中的不确定度,证明本实验测定的值为 $(120.7 \pm 13.8) \mu\text{g/L}$ 。

石墨炉法测血铅,是目前公认的一种比较可靠的方法,但由于全血中含有大量金属元素以及蛋白质,铅元素本身又为一种低温元素,用石墨炉法测定时,其灰化温度仅为 500 左右,在此温度下不能有效降低基体干扰。如果提高灰化温度以消除基体干扰,会造成铅元素损失。因此,在测定过程中,往往需要添加基体改进剂提高灰化温度,降低背景。在血铅测定的研究中,常用的基体改进剂有磷酸二氢铵、抗坏血酸、曲拉通 X-100、硝酸镁等,有文献报道,磷酸二氢铵可使灰化温度提高至 600,硝酸镁可提高至 700^[12],预实验过程中发现,灰化温度在 700 时不能完全消除基体干扰,有时仍会出现背景较高的问题。而硝酸钡是一种良好的基体改进剂,钡与血样中的铅形成稳定的络合物,灰化温度可提高至 1000 以上,既可消除基体干扰,又不会导致血样中的铅损失,但鉴于成本问题,少有应用硝酸钡及硝酸镁作为基体改进剂的研究报道。本研究应用低浓度硝酸钡和硝酸镁作为基体改进剂既解决了常规基体改进剂所致背景仍稍高的问题,亦兼顾了成本控制,取得了

较好的实验结果。

应用石墨炉直接进样检测血中铅,容易造成石墨管积碳,影响测定结果。为了减少积碳的产生,可以在石墨管升温程序中通入少量空气进行灰化(流量 50 mL/min,持续 15 s)以减少积碳,但会一定程度的减少石墨管的使用寿命。

· 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] PATRIARCA M, CASTELLI M, CORSETTI F, et al. Estimate of uncertainty of measurement from a single-laboratory validation study: application to the determination of lead in blood[J]. Clin Chem, 2004, 50(8): 1396-1405.
- [2] LANPHEAR BP, DIETRICH K, AUINGER P, et al. Cognitive deficits associated with blood lead concentrations <10 μg/dL in US children and adolescents[J]. Public Health Rep, 2000, 115(6): 521-529.
- [3] LIN JL, LIN-TAN DT, HSU KH, et al. Environmental lead exposure and progression of chronic renal disease in patients without diabetes[J]. N Engl J Med, 2003, 348(4): 277-286.
- [4] 周林甫,徐莉,李悲雁,等. 矿泉疗养因子对飞行员血液微量元素的影响[J]. 中国疗养医学, 2010, 19(12): 1059-1060.
- [5] 曹丽玲,何燕,杨立学. 测定血铅的石墨炉原子吸收光谱法[J]. 职业与健康, 2008, 24(22): 2416-2417.
- [6] 夏卫文,包青峰. 石墨炉原子吸收光谱法测全血中铅的方法改进[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(7): 881-882.
- [7] 李芳,杨晓峰,谢宏斌. 改良基体改进剂用于石墨炉原子吸收测定血铅的研究[J]. 实用预防医学, 2007, 14(4): 1227-1228.
- [8] 谢维平,黄盈煜,傅晖蓉,等. 血铅的塞曼背景校正石墨炉原子吸收测定法[J]. 职业与健康, 2004, 20(9): 43-44.
- [9] 王建华,沈其萍,栗咏. 水中铜的火焰原子吸收测定法的不确定度评定[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(6): 475-476.
- [10] 北京市环境保护监测中心. 环境监测测量不确定度评定[M]. 北京: 中国计量出版社, 2009: 194-200.
- [11] 宋为丽,王敏. 石墨炉原子吸收光谱法测定血铅的不确定度[J]. 中国职业医学, 2008, 35(6): 508-509.
- [12] 王会存,施良,叶晓东. 以钡-硝酸镁为基体改进剂石墨炉原子吸收光谱法测定高盐食品中的铅[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(7): 814-815.

(收稿日期: 2013-02-17)

(英文编审: 金克峙; 编辑: 王晓宇; 校对: 葛宏妍)