

DOI:10.16369/j.oher.issn.1007-1326.2015.02.016

•检测与评价•

AA240Z 石墨炉原子吸收光谱仪测定尿镉计算方式探讨

吴宪毅,周小敏

惠州市职业病防治院,广东 惠州 516008

摘要:目的 探讨使用 AA240Z 石墨炉原子吸收光谱仪测定尿镉的计算方式。方法 采用石墨炉原子吸收光谱测定方法,通过不同的计算方式测定 2013 年广东省职业卫生检测实验室间比对尿镉样品,对所得结果进行比较。结果 正常人尿、拟合方式以及扣除试剂空白的选取不同,对检测结果具有较大影响。使用软件线性拟合得到工作曲线方程为 $A = 0.08454C + 0.01515$,相关系数 $r = 0.9994$;在该拟合方式下,不扣除试剂空白得到考核样品浓度 ZB 值和 ZW 值分别为 0.98、1.63,评价为满意。结论 使用该仪器测定尿镉时,选择低空白值的试剂和正常人尿,运用软件线性拟合、不扣除试剂空白的方式对样品进行计算,可获得更趋近真实值的检测结果。

关键词:石墨炉;原子吸收;尿镉;吸光度;工作曲线;计算方式

中图分类号: R134

文献标志码: B

文章编号:1007-1326(2015)02-0118-03

人体吸收的镉主要经肾脏随尿排出,因此尿镉浓度可以反映人长期接触镉的水平。目前测定尿镉的国家标准方法有火焰原子吸收光谱法^[1]、石墨炉原子吸收光谱法^[2]和微分电位溶出法^[3],最为常用和普及的方法为石墨炉原子吸收光谱法。各实验室在用该法测定尿镉时多使用国外品牌的石墨炉原子吸收光谱仪,虽然仪器基本工作原理相同,但在计算方式上与国家标准存在不同程度的差异。盲目按照国家标准的计算方式进行计算,检测结果会产生较大的准确度风险。本文拟对实验室使用的石墨炉原子吸收光谱仪计算方式进行分析 and 探讨,找出更能趋近真实值的数据处理方式,以保证检测结果的科学、准确。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 VarianAA240Z 石墨炉原子吸收光谱仪,含 PSD-120A 自动进样器;北京有色金属研究总院生产的热解涂层石墨管和镉空心阴极灯。

1.1.2 试剂 国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院的镉标准溶液(GSBG 62040-90),1 000 $\mu\text{g/mL}$,用 1%硝酸逐级配置成 0.012 5 $\mu\text{g/mL}$ 使用液;广州化学试剂厂的硝酸,优级纯;实验用水为超纯水;基体改进剂[0.1 g/L $\text{PdCl}_2 + 0.12 \text{ g/L Mg}(\text{NO}_3)_2 + 0.5\% \text{ TritonX-100}$];所有实验器材均置于 2%硝酸溶液中浸泡过夜,依次

用蒸馏水、超纯水冲洗干净,干燥后备用。

1.1.3 样品 待测样品为本院(惠州市职业病防治院)参加 2013 年广东省职业卫生检测实验室间比对尿镉项目考核样品,由组织方(广东省职业病防治院)制备提供。尿镉项目有 A、B 两个浓度样品;组织方按相关规范^[4]对样品进行均匀性和稳定性检验以及统计学分析,证明样品是均匀和稳定的。比对样品领取时,其密封性及完整性均完好;比对样品运输、保存过程中无破损、变质。样品经测定计算后按 $\mu\text{g/L}$ 报告结果。

1.2 方法

1.2.1 仪器条件 波长 228.8 nm,灯电流 4.0 mA,狭缝 0.5 nm,进样量 10 μL ,Zeeman 背景校正,保护气为氩气。石墨炉升温程序见表 1。

表 1 石墨炉升温程序

步骤	温度(℃)	升温时间(s)	保持时间(s)	气流(L/min)	读数
干燥(1)	70	5	2	0.3	是
干燥(2)	90	8	10	0.3	是
干燥(3)	120	10	15	0.3	是
灰化	500	10	15	0.3	是
原子化	2 000	1	3	0	否
清洗	2 100	2	0	0.3	是

1.2.2 分析步骤 1) 工作曲线的制备:分别取 0.012 5 $\mu\text{g/mL}$ 镉标准使用液、1%硝酸溶液、基体改进剂、正常人尿按表 2 步骤制备成浓度为 0.00、0.50、1.00、2.00、3.00、5.00 $\mu\text{g/L}$ 工作曲线系列。见表 2。

作者简介:吴宪毅(1982-),男,大学本科,主管技师,主要从事职业卫生检测与实验室质量控制工作。

表 2 工作曲线制备步骤

试剂	0 管	1 管	2 管	3 管	4 管	5 管
0.012 5 μg/mL 镉标准使用液(mL)	0.00	0.04	0.08	0.16	0.24	0.40
1%硝酸溶液(mL)	0.60	0.56	0.52	0.44	0.36	0.20
基体改进剂(mL)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
正常人尿(mL)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
不同浓度尿镉(μg/L)	0.00	0.50	1.00	2.00	3.00	5.00

2) 试剂空白和样品的制备: 分别选不同量的硝酸、基体改进剂和人尿制备试剂空白和样品。见表 3。

表 3 制备试剂空白和样品的组分

组分	试剂空白	样品(5 倍稀释)
1%硝酸(mL)	0.80	0.60
基体改进剂(mL)	0.20	0.20
尿(mL)	0.00	0.20

3) 测定和结果计算: 工作曲线浓度点、试剂空白和考核样品每个分别进样 3 次, 每次 10 μL, 按表 1 条件进行测定。以工作曲线浓度点对应吸光度拟合工作曲线方程; 将试剂空白和考核样品吸光度代入方程得到的值, 乘以稀释倍数后得到浓度值。

1.2.3 评价指标 根据实验室的成对样品(A、B 浓度)检测数据统计获得的实验室内 Z 比分数(ZW)和实验室间 Z 比分数(ZB), 作为室间比对结果评价的主要评价指标^[5], 并以 ZB 绝对值或 ZW 绝对值 < 2、2 ≤ ZB 绝对值或 ZW 绝对值 < 3、ZB 绝对值或 ZW 绝对值 ≥ 3 作为评价实验室该项目满意、基本满意、不满意的界限。使用 Excel 软件依据相关规范^[6]对数据进行 ZB 和 ZW 比分数计算^[7]。计算公式:

$$S=\frac{A+B}{\sqrt{2}}, D=\frac{A-B}{\sqrt{2}}, ZB=\frac{S-S_{mid}}{\text{标准 } IQR_s}, ZW=\frac{D-D_{mid}}{\text{标准 } IQR_D}$$

式中 S、D 为结果对标准化和、结果对标准化差; S_{mid}、D_{mid} 为 S 中位值、D 中位值; 标准 IQR_s、标准 IQR_D 为结果对标准化和的四分位间距、结果对标准化差的四分位间距。

2 结果

2.1 不同计算方法数据比较

2013 年, 尿镉考核的工作曲线吸光度通过仪器软件和人工录入 Excel 进行计算, 其中仪器软件计算选用线性过原点拟合和线性拟合 2 种方式, 人工录入 Excel 计算选用扣除 0 管后线性拟合方式。见表 4。

表 4 2013 年尿镉室间比对考核工作曲线拟合数据

工作曲线参数	仪器软件计算结果		人工录入 Excel 计算结果
	线性过原点拟合	线性拟合	扣除 0 管后线性拟合
0 管吸光度	0.009 9	0.009 9	0.009 9
1 管吸光度	0.042 8	0.052 8	0.042 9
2 管吸光度	0.096 7	0.106 6	0.096 7
3 管吸光度	0.177 1	0.187 1	0.177 2
4 管吸光度	0.264 2	0.274 2	0.264 3
5 管吸光度	0.422 6	0.432 6	0.422 7
拟合曲线方程	A = 0.086 07c	A = 0.084 54c + 0.015 15	A = 0.084 60c + 0.005 20
相关系数	0.999 1	0.999 4	0.999 3
试剂空白吸光度	0.007 5	0.007 5	0.007 5

[注] A 为吸光度, c 为尿镉浓度。

2.2 不同计算结果的 Z 比分数比较

分别用仪器软件线性拟合以及录入 Excel 扣除 0 管后线性拟合的方式拟合工作曲线方程; 按考核样品是否扣除试剂空白吸光度, 代入拟合方程计算出 4 组尿镉浓度; 将所得的 4 组尿镉浓度值代入 2013 年广东省职业卫生检测实验室间比对组织方反馈的各实验室浓度值中, 按评价指标公式计算 ZB 与 ZW 值。见表 5。

表 5 2013 年尿镉室间比对不同计算方法结果比较

试剂空白选择	仪器软件线性拟合			录入 Excel 扣除 0 管后线性拟合		
	浓度(μg/L)	ZB 值	ZW 值	浓度(μg/L)	ZB 值	ZW 值
扣除试剂空白	A:11.00 B: 2.88	- 0.91	1.71	A:11.50 B: 3.44	1.49	1.59
不扣除试剂空白	A:11.40 B: 3.32	0.98	1.63	A:12.00 B: 3.91	3.70	1.65

3 讨论

3.1 产生吸光度的因素

该实验产生吸光度的因素有: 镉、硝酸、基体改进剂、尿液成分。其中, 镉所产生的吸光度是检测中所需的响应值, 其余均为基体成分, 可能增强或减弱镉吸光度值。按照表 2、表 3 步骤, 在配制工作曲线、试剂空白和样品过程中, 控制所加入各种试剂的体积比例一致, 除特殊要求外(如试剂空白), 可使基体成分得到匹配。

3.2 正常人尿的选择

尿基体复杂, 其主要成分为无机盐和有机代谢产物, 各成份含量与个体代谢差异有关。为减少基体尿中基体成分吸光度对标准溶液吸光度的影响, 宜选取不接触镉的正常人群尿制备工作曲线, 减少因尿基体成分导致的本底影响。

3.3 拟合方式的选择

AA240Z 石墨炉原子吸收光谱仪自带软件中与测定尿镉含量关系密切的是线性过原点拟合和线性拟合。表 4 数据显示, 软件自带的两种拟合方式存在以下情况: 第一, 线性过原点拟合是自动扣除了 0 管后的拟合, 并强制曲线过原点而不产生截距, 导致方程斜率也产生了变化, 放弃截距的微调作用等于牺牲了最优的拟合度来获得线性方程; 第二, 线性拟合是在测得标准浓度点实际吸光度的基础上不扣除 0 管进行拟合的, 产生的截距主要由工作曲线系列中的系统误差 (主要是基体成分) 和随机误差造成。通过和上述两方面对比可知, 软件中线性过原点的拟合方式对检测结果产生了较大的偏差, 且不符合我国常规标准曲线或工作曲线检测方法的要求, 该拟合方式不适宜尿镉测定的使用。

按照工作曲线的线性拟合要求, 从仪器线性拟合方程和人工扣除 0 管后线性拟合方程相比较可知: 两者斜率一致, 差异在于后者的截距比前者小。出现差异的主要原因在于后者通过扣除 0 管后的拟合, 相当于扣除了所有同等体积下各种试剂、生物基体等成分所产生的系统误差, 最后产生的截距为随机误差所产生。通过人工扣除 0 管后线性拟合, 虽然最大限度地扣除了系列中所有的基体干扰, 却与样品检测不能匹配。因为在样品检测中即便扣除了试剂空白, 但仍然没有扣除样品中生物基体复杂成分产生的吸光度, 从而导致样品检测结果偏大。同时, 进行大批量样品检测时, 人工转录运算过程中有增大出现过失误差的可能。

3.4 试剂空白的影响

试剂空白的信号值可能会受到两个因素的影响: 一是试剂空白用的都是水溶液体系, 而所用的曲线系列是含有正常人尿的复杂体系, 两者体系间的差别会造成试剂空白响应值的不准确性; 二是试剂空白的响

应值通常很低, 所得到的试剂空白响应值在很大程度上是由仪器波动造成的, 实际响应值可能没有这么高, 所以所得信号值不可靠^[8]。因此, 机械性地按照国标要求在该仪器上对样品检测数据扣除试剂空白, 反而有可能使样品检测结果偏低。结合上述拟合方式的选择, 如表 5 数据显示, 选用软件线性拟合搭配不扣除试剂空白的操作, 盲样考核检测数据代入室间比对数据组中计算所得 ZB 和 ZW 结果较其他操作更为理想。

综上所述, 在使用 AA240Z 石墨炉原子吸收光谱仪测定尿镉时, 选择低空白值的试剂和正常人尿, 运用软件线性拟合、不扣除试剂空白的方式对样品进行计算, 可获得更趋近真实值的检测结果。该处理与计算方式可能对该设备在测定生物样品中其他微量金属元素 (如血铅、尿铅等) 都有参考意义, 但需要视具体情况进行具体分析, 以获得更为科学、准确的检测结果。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. WS/T31-1996 尿中镉的火焰原子吸收光谱法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [2] 中华人民共和国卫生部. WS/T32-1996 尿中镉的石墨炉原子吸收光谱测定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [3] 中华人民共和国卫生部. WS/T33-1996 尿中镉的微分电位溶出测定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [4] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL03 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南 [S]. 北京: 中国计量出版社, 2006.
- [5] 王承忠. 实验室间比对的能力验证及稳健统计技术 [J]. 理化检验: 物理分册, 2005, 41(1): 48-51
- [6] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL02 能力验证结果的统计处理和评价指南 [S]. 北京: 中国计量出版社, 2006.
- [7] 徐枫, 周艳苗. Excel 在稳健统计 Z 比计算中的应用 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(8): 1668-1669.
- [8] 邵鹏, 吴礼康, 付斌, 等. 石墨炉原子吸收光谱法测定血铅结果计算方法探讨 [J]. 职业与健康, 2013, 29(20): 2653-2655.

收稿日期: 2014-09-15 修回日期: 2015-02-01