

【化学测定方法】

氢化物发生-原子荧光法测定化妆品中砷、汞、铅、硒

施家威, 金永高

(浙江省宁波市疾病预防控制中心, 浙江宁波 315010)

【摘要】目的:建立化妆品中快速测定砷、汞、铅、硒的测定方法。方法:采用微波消解法消解样品,氢化物原子荧光法测定砷、汞、铅、硒的含量。结果:在最佳条件下,测定结果的 $RSD < 6.9\%$ ($n=6$),回收率范围为 $89.0\% \sim 103.2\%$,在取样量为 0.5 g 时方法的检出限分别为 $0.0047, 0.0017, 0.013, 0.0076\text{ mg/kg}$ 。结论:该方法简单快速,灵敏度高,可作为化妆品中微量砷、汞、铅、硒的测定方法。

【关键词】氢化物发生-原子荧光;化妆品;砷;汞;铅;硒;二次消解

【中图分类号】O657.31

【文献标识码】A

【文章编号】1004-8685(2008)11-2288-03

Determination of arsenic, mercury, lead and selenium in content by hydride generation atom fluorescence spectrometry

Shi Jia-wei, Jin Yong-gao

(Ningbo Center for Disease Control and Prevention, Ningbo 315010, China)

【Abstract】Objective: To explore the best measurement method to determine arsenic, mercury, lead and selenium in content. Methods: Arsenic, mercury, lead and selenium in content were determined by hydride generation atom fluorescence spectrometry after microwave digestion. Results: In the best condition, the results of the $RSD < 6.9\%$ ($n=6$), recovery rate of 89.0% to 103.2% , in the sampling of 0.5 g at the detection limit $0.0047, 0.0017, 0.013, 0.0076\text{ mg/kg}$. Conclusion: The method is simple and fast, high sensitivity, can be used as cosmetics trace arsenic, mercury, lead, selenium determination.

【Key words】HG-AFS; Cosmetics; Arsenic, mercury, lead, selenium; Secondary digestion

化妆品中的砷、汞、铅、硒是有害污染物,具有一定的蓄积性,其中砷、汞、铅化妆品的必测项目。现有的测定化妆品中砷、汞、铅、硒的消解方法和测定方法都有所不同,操作繁琐费时,并增加试剂器材的消耗。本文将各种不同的消解方法优化合并,并采用目前测定砷、汞、铅、硒灵敏度最高的氢化物发生-原子荧光法测定,收到了良好的结果,证明本方法是高效并切实可行的方法,可为制定标准作出必要的参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

ETHOS D 型微波消解仪; AFS-680 原子荧光光度计; 原子荧光专用砷、汞、铅、硒特种空心阴极灯。硝酸(优级纯); 盐酸(优级纯); 过氧化氢(分析纯); 实验用去离子水或同等纯度水; 5% 硫脲和 5% 抗坏血酸混合溶液; 2% 硼氢化钾溶液; 砷、汞、铅、硒标准储备溶液的浓度均为 $1, 1, 1, 0.1\text{ mg/L}$ (国家标准物质研究中心)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的消解 化妆品种类繁多,基体都各不一样,本文采用二次微波消解法,对不同的化妆品,都取得了较好的效果。具体消解步骤如下:①直接取样 $0.2 \sim 0.3\text{ g}$, 针对一些含有挥发性物质(乙醇等)的化妆品,如香水、花露水等和一些含

有推进剂的化妆品,如摩丝先在 80°C 电热板或者水浴挥发挥发性物质,其他化妆品无需经过此步;②向消解管加入 2 ml 硝酸, 6 ml 去离子水,直接微波消解;③冷却后加入 2 ml 双氧水,进行二次消解。将样品定容至 100 ml , 备用。

1.2.2 测定方法 各元素的定量分析方法均采用氢化物原子荧光光度法。主要仪器条件见表 1。

表 1 主要仪器工作条件

| 测定元素 | 灯电流 (mA) | 负高压 (V) | 还原剂 | 酸度 |
|------|----------|---------|---|--|
| As | 60 | 260 | 2% $\text{KBH}_4 + 0.5\% \text{NaOH}$ | 5% (V/V) $\text{HCl} + \text{硫脲}(5\%) - \text{抗坏血酸}(5\%)$ |
| Hg | 12 | 260 | 0.5% $\text{KBH}_4 + 0.5\% \text{NaOH}$ | 5% (V/V) HCl/HNO_3 |
| Pb | 80 | 260 | 2% $\text{KBH}_4 + 0.5\% \text{NaOH}$ | 含 1.5% (v/v) HCl , 0.4% H_2CO_3 和 2% $\text{K}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$ |
| Se | 60 | 260 | 2% $\text{KBH}_4 + 0.5\% \text{NaOH}$ | 5% (V/V) $\text{HCl} + \text{硫脲}(5\%) - \text{抗坏血酸}(5\%)$ |

其他条件均采用默认条件

2 结果

2.1 消解条件

二次消解可以基本满足一般化妆品的消解要求,因为其用酸量小,一般无须赶酸,也基本杜绝了汞的挥发和过量氮氧化物引起的荧光淬灭。实验发现对于一些粉饼类化妆品尽管无法消解完全,但过滤后基本不影响测定结果。

2.2 各元素的线性范围和仪器检出限试验

线性范围分别为砷: $0.2 \sim 200\text{ }\mu\text{g/L}$, $r=0.9995$; 汞: $0.1 \sim$

【基金项目】宁波市重点实验室建设基金(2008 A22002)

【作者简介】施家威(1981-), 学士, 主管技师, 主要从事光谱及色谱分析研究。

100 μg/L, $r = 0.9996$; 铅: 0.2 ~ 200 μg/L, $r = 0.9990$; 硒: 0.2 ~ 200 μg/L, $r = 0.9995$ 。其方法检出限 ($LD = 3\sigma, n = 11$) 分别为砷: 0.087 μg/L; 汞: 0.024 μg/L; 铅: 0.115 μg/L; 硒: 0.068 μg/L。

2.3 精密度和回收率试验

分别取 0.2 g 不同样品加入砷、汞、铅、硒, 用与样品相同的分析条件进行回收试验, 取 6 次测定结果, 计算其相对标准偏差, 为 2.6% ~ 6.9%, 均小于 10%, 加标回收率在 89% ~ 103.2% 之间, 符合测定的要求。回收率试验结果见表 2。

表 2 回收率试验结果

| 元素 | 化妆品种类 | 本底值 (mg/kg) | 加标值 (mg/kg) | 测定值 (mg/kg) | 回收率 (%) |
|----|-------|-------------|-------------|-------------|---------|
| As | 香水 | - | 1.00 | 0.93 | 93 |
| | 润肤露 | 0.32 | 1.00 | 1.26 | 94 |
| | 指甲油 | 0.86 | 1.00 | 1.78 | 92 |
| Hg | 香水 | - | 0.500 | 0.45 | 90 |
| | 润肤露 | 0.054 | 0.500 | 0.570 | 103.2 |
| | 指甲油 | 0.043 | 0.500 | 0.549 | 101.2 |
| Pb | 香水 | - | 10.00 | 9.43 | 94.3 |
| | 润肤露 | 0.67 | 10.00 | 10.54 | 98.7 |
| | 指甲油 | 1.67 | 10.00 | 10.97 | 93.0 |
| Se | 香水 | - | 1.00 | 0.98 | 98 |
| | 润肤露 | - | 1.00 | 0.895 | 89 |
| | 指甲油 | 0.23 | 1.00 | 1.162 | 93 |

3 讨论

3.1 样品前处理

3.1.1 消解条件的选择 微波消解法对易挥发元素非常适用。但是一次消解后消解液中会含有大量的氮氧化物以及少量的硝酸, 这势必会影响到测定砷、铅、硒中还原剂和待测元素的反应, 同时氮氧化物也会引起荧光淬灭, 从而影响测定, 所以一般微波消解的样品都要经过“赶酸”这个过程, 而“赶酸”往往会引起 Hg 的挥发导致测量结果偏低, 尽管可以加入硼酸加以固定, 但是经过实验对比发现其回收率要比二次消解低。本文采用的二次消解法本身用酸量只有普通方法的一半, 定容到 100 ml 后基本可以消除氮氧化物以及少量的硝酸所带来的干扰。通过对比实验 (表 3) 可以发现二次消解法相对于其他的消解方法对于 4 种元素都有较高的回收率, 同时酸和氧化剂的用量是最少的, 可以大幅度降低本底。

表 3 消解条件的选择

| 消解方法 | 消解条件 | 各元素回收率% | | | |
|------|-------------------------------|---------|-------|------|------|
| | | As | Hg | Pb | Se |
| 湿法消解 | 回流 5ml 混合酸(1:4 硝酸:高氯酸) | 79.4 | 89.2 | 76.3 | 78.5 |
| | 回流 + 赶酸 5 ml 混合酸(1:4 硝酸:高氯酸) | 101.2 | 58.6 | 96.3 | 95.3 |
| 微波消解 | 一次消解 5 ml 硝酸 + 2 ml 过氧化氢 | 76.8 | 95.7 | 81.3 | 73.2 |
| | 一次消解 + 赶酸 5 ml 硝酸 + 2 ml 过氧化氢 | 89.1 | 70.3 | 86.4 | 97.9 |
| | 二次消解 2 ml 硝酸 + 2 ml 过氧化氢 | 94.2 | 103.2 | 95.7 | 90.0 |
| | 二次消解 2 ml 硝酸 + 2 ml 过氧化氢 | 94.2 | 103.2 | 95.7 | 90.0 |

3.1.2 称样量对测定的影响 在消解时称样量一般都在 0.5 ~ 1.0 g, 本文采用 0.2 g 以下的称样量可以大幅度减少硝酸和其他试剂的用量。分别对不同样品 (香水、润肤露、指甲油) 称样量分别为 0.20、0.50 g 的两组测定结果进行 t 检验, 都表明差异没有显著性。

3.1.3 样品稀释倍数对测定的影响 微波消解后, 样品稀释液中含有一定浓度的氮氧化物以及硝酸会影响各种元素的测定, 通过对比实验以回收率为 Y 轴、以最终定容体积为 X 轴作曲线 (图 1) 可以发现除 Hg 以外其他 3 种元素浓度越高对测定的影响越大, 但是当定容体积在 100 ml 以上时, 曲线变得水平, 说明 0.2 g 样品消解后稀释到 100 ml 后氮氧化物以及硝酸的浓度不影响测定, 所以本文将最终定容体积设定在 100 ml。

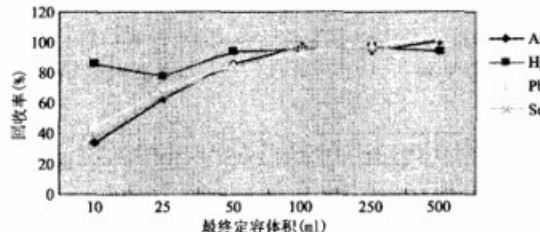


图 1 样品稀释倍数对测定的影响

3.2 测定过程中的相关问题

3.2.1 2 种元素同时测定的可能性 2 种元素同时测定可以大量的节约时间和试剂, 从理论上来说着 4 种元素都存在着 2 种元素同时测定的可能性。但是通过两两配对同时测定可以发现 As 与 Hg、Hg 与 Se、As 与 Se 可以同时测定, 其中 As 与 Se 测定时要求 KBH_4 的浓度要在 2% ~ 2.5%, 而 Pb 与其他元素同时测定无法得到比较好的稳定性和回收率, 不建议同时测定。

3.2.2 测定时温度对 KBH_4 反应的影响 通过大量的实验发现反应液体的温度对于各种元素测定的影响非常大。本文将原子荧光的反应器和一级汽液分离器置于恒温水浴锅中, 分别测量在各个温度下同浓度各种元素的荧光强度见图 2, 发现水温在 6℃ 以下基本没有荧光强度, 当水温超过 12℃ 以后荧光强度基本不再增加。所以如果气温低于 10℃, 则建议在测定前在仪器正常工作温度下平衡 15 ~ 30 min。

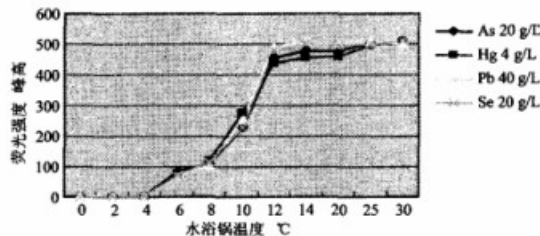


图 2 不同温度下同浓度各种元素的荧光强度

4 小结

本文采用的二次微波消解氢化物发生原子荧光法测定化妆品中的砷、汞、铅、硒, 具有简便、快速、灵敏度高、干扰少、线性范围宽等优点, 特别是样品经消化后可以测定 4 种元素, 极大地提高了分析效率。

(下转第 2331 页)

常对照组, 差别有统计学意义 ($P < 0.01$), 而乳腺良性肿瘤组两项检测值及阳性率与正常对照组相比, 则差别无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 两种血清标志物单独及联合检测检出率

见表 2。

表 2 2 种血清标志物单独及联检阳性率比较例 (%)

| 组别 | 例数 | CA153 | TSGF | CA153 + TSGF |
|---------|----|----------|----------|--------------|
| 正常对照组 | 40 | 0(0) | 2(5) | 2(5.0) |
| 乳腺良性肿瘤组 | 53 | 5(9.4) | 6(11.3) | 8(15.1) |
| 乳腺癌组 | 60 | 38(63.3) | 45(75.0) | 54(90.0) |

表 2 显示: 正常女性对照组与乳腺良性肿瘤组 CA153、TSGF 阳性率差别无统计学意义 ($P > 0.05$), 乳腺癌组 2 项血清标志物的阳性率无论是单项检测或者联合检测均显著高于其他两组 ($P < 0.01$)。

2.3 两种血清标志物单项及联检对乳腺癌诊断的敏感性、特异性、准确性

见表 3。

表 3 两种血清标志物对乳腺癌诊断的敏感性、特异性、准确性 (%)

| 项目 | 敏感性 | 特异性 | 准确性 |
|--------------|------|------|------|
| CA153 | 63.3 | 93.5 | 74.2 |
| TSGF | 75.0 | 91.4 | 81.2 |
| CA153 + TSGF | 90.0 | 89.2 | 92.3 |

表 3 显示, CA153、TSGF 联检除特异性变化不大外, 准确性及敏感性均有所提高。

3 讨论

肿瘤标志物目前日益广泛应用于肿瘤的诊断、临床监测、判断疗效及愈后等方面。CA153 是目前公认的对乳腺癌较为特异的肿瘤标志物, 但仍有部分乳腺癌患者呈阴性或低浓度, 其在早期乳腺癌的含量和阳性检出率较低^[1], 使部分患者得不到早期诊断。恶性肿瘤特异性生长因子(TSGF)是恶性肿瘤

细胞及周边毛细血管大量扩增的物质基础, 具有恶性肿瘤特异性^[2]。TSGF 来源于恶性肿瘤细胞, 它仅对恶性肿瘤血管增生起重要作用, 而对非肿瘤血管增生无明显关系, 细胞发生恶变早期就可释放入血, 在恶性肿瘤形成早期即可检测到, 所以, TSGF 不仅是恶性肿瘤的特异标志, 而且对早期诊断具有重要价值^[3]。陈建伟等^[4]利用 CA153、CEA 及 CA125 联合检测诊断乳腺癌, 其联合检测的敏感性达 69%, 而周剑波等^[5]报道 CEA、CA199、CA125、CA153 联合检测乳腺癌的敏感性达 80.15%。本文 60 例乳腺癌患者中 CA153 阳性检出率为 63.3%, 准确性为 74.2%, TSGF 阳性检出率为 75.0%, 准确性为 81.2%。而联检的敏感性达到 90.0%, 准确性也达到 92.3%, 优于陈建伟、周剑波等的报道。结果显示, 单项检测乳腺癌患者水平与正常对照比较差别均有统计学意义 ($P < 0.01$), 但其敏感性、准确性均不如两项联检, 因此, CA153、TSGF 联检对乳腺癌的临床诊断具有重要参考价值。我们还观察到 53 例良性肿瘤患者中, 6 例 TSGF 含量升高 ($\geq 71 \mu/ml$), 同样 40 例正常对照中也有 2 例 TSGF 升高, 这可能与急性炎症等原因引起的假阳性有关, 这种来源于炎症细胞的非特异性血管生长因子引起暂时性升高, 炎症消失后, 即降低至正常水平。此外, 标本溶血、脂血等均可造成假阴性, 可通过空白对照来解决。假阳性要积极寻找原因并结合临床进行排除, 必要时需进行动态检测。

总之, 我们认为 CA-153、TSGF 联合检测具有创伤性小, 操作简便、快速, 敏感性高、准确性好的特点, 是一种值得进一步研究的肿瘤标志物检测方法。

[参考文献]

[1] 陈智周, 范振符, 杨剑, 等. 肿瘤标志物 CA153 的免疫放射分析及其临床应用[J]. 中华肿瘤杂志, 1998, 20(2): 125-127.
 [2] 黄昭穗, 王一敏, 黄春红, 等. 恶性肿瘤相关物质检测在肿瘤诊断中的应用[J]. 肿瘤防治研究, 2002, 20(3): 215.
 [3] 高文斌, 范振符, 杨剑, 等. 肿瘤标志物 CA153 的免疫放射分析及临床应用[J]. 中华肿瘤杂志, 1998, 20(2): 125-127.
 [4] 陈建伟, 梁建国. CA153、CEA 及 CA125 联合检测对乳腺癌诊断的意义的意义[J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15(4): 256.
 [5] 周剑波, 纪成斌, 唐琳, 等. 化学发光免疫分析联合检测四项肿瘤标志物及其临床应用[J]. 右江医学, 1999, 27(3): 151-152.
 (收稿日期: 2008-04-14)

(上接第 2289 页)

[参考文献]

[1] US EPA Method 30511 Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soil, and oil[S]. 1994.
 [2] ASTM C1387-98 standard guide for the determinate of technetium-99 in soil[S]. 2002.
 [3] 李海华, 胡习英, 张杰, 等. 化妆品中重金属的微波消解火焰原子吸收测定法[J]. 环境与健康杂志, 2007, 24(3): 169-170.
 [4] 赵同刚. 化妆品卫生规范[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2007: 170-180.
 [5] 郑文兰, 刘文娟, 刘玉兰, 等. 氢化物发生-原子荧光光度法测保健品中的砷[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(3): 334.
 [6] 王宇敏. 原子荧光光谱测定保健食品中 As 和 Hg 的分析方法[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(5): 606.

[7] 方荣. 原子吸收光谱法在卫生检验中的应用[M]. 北京: 北京大学出版社, 1991: 190.
 [8] 丛浦珠, 苏克曼. 分析化学手册-质谱分析[M]. 第 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2005.
 [9] GB/T5009.1-2003. 食品卫生检验方法 1 理化部分(一) 总则[S]. 2004.
 [10] 高健会, 葛宝坤, 黄国明, 等. 密闭压力消化 ICP-MS 同时测定食品中多种元素的方法[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(3): 348-349.
 [11] 鲁丹, 姜建民. 同时测定保健食品中微量铅和汞的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 36-37.
 [12] 刘华. 微波消解技术在分析食品中微量元素方面的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(4): 406-408.
 (收稿日期: 2008-06-30)