

尿中硒的原子荧光光谱法

1 **原理** 尿样经微波消解后，在盐酸酸性条件下，加热使六价硒还原成四价硒，再加入硼氢化钠或硼氢化钾使还原生成硒化氢，由氩气带入石英原子化器中分解为原子态硒，在硒空心阴极灯的发射光激发下产生原子荧光，其荧光强度在固定条件下与被测液中的硒浓度成正比，与标准系列比较定量。

2 仪器

- 2.1 具盖聚乙烯塑料瓶，500ml。
- 2.2 尿比重计。
- 2.3 具盖刻度试管，10ml。
- 2.4 微波消解器，带样品消解罐。
- 2.5 沸水浴。
- 2.6 原子荧光分析仪，具氢化物发生装置和硒空心阴极灯。仪器操作条件：

波 长	196.0nm	读数时	13s
原子化器温度	200℃	进样体积	1ml
光电倍增管负高压	340V	进样方式	断续流动
原子化器高度	7mm	测量方式	标准曲线法
载气(Ar)流量	800ml/min	读数方法	峰面积
屏蔽气(Ar)流量	900ml/min	灯电流	80mA

3 **试剂** 实验用水为双蒸水或去离子水。

- 3.1 消解液：1+4高氯酸(优级纯)+硝酸(优级纯)。
- 3.2 盐酸(优级纯)溶液，6mol/L。
- 3.3 铁氰化钾溶液，100g/L。
- 3.4 硼氢化钾或硼氢化钠溶液，8g/L：用2g/L氢氧化钠溶液配制。
- 3.5 硒标准溶液：称取0.1405g二氧化硒(预先在105℃干燥2h)，溶于少量水中，加入1 ml硝酸(高纯)，定量移入100ml容量瓶中，加水至刻度。此溶液1.0mg/ml硒标准贮备液。临用前，用水稀释成2.5 μg/ml硒标准溶液。

4 **样品的采集、运输和储存** 用具塞聚乙烯塑料瓶收集一次班后尿，混匀后，尽快测定比重。取10ml尿，加入具塞聚氯乙烯塑料离心管中。在室温下应尽快运输。置于4℃冰箱中可保存2周。

5 分析步骤

5.1 样品处理：将尿样从冰箱中取出，放置恢复到室温后；充分摇匀。取2.0ml尿样于样品消解罐中，加入2ml消解液，放入密闭微波炉中消解5min，卸压后，取出样品消解罐，用4ml盐酸溶液将样品转移至具塞刻度试管中，于沸水浴中加热30min，将六价硒还原成四价硒。冷却后，用水定容到10ml，加入1ml铁氰化钾溶液，摇匀，供测定。同时取2.0ml水代替尿样，按样品同样处理测定，作为空白对照。

5.2 标准曲线的绘制：取6个样品消解罐，分别加入0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00ml标准溶液，各加正常人混合尿2.0ml，制备成0.0、50.0、100.0、150.0、200.0、250.0 μg / L硒标准系列。按样品处理进行消解，用水定容至10.0ml，加入1ml铁氰化钾溶液，摇匀。参照仪器操作条件，将原子荧光光度计调节至最佳

测定状态。首先进入空白值测量状态，连续用第1管进样以获得稳定的空白值，并执行自动扣底后，再依次测定各标准管(此时第1管需要再测一次)。以测得的荧光强度值减去第1管的荧光强度值后与相应的硒浓度($\mu\text{g/L}$)绘制标准曲线。

5.3 样品测定：用测定标准管的操作条件测定样品和空白对照。在测定样品前，需要再进入空白值测量状态，先用标准第1管测试使读数复原并稳定后，再测定两次空白对照，让仪器取其均值作为扣底空白值，随后依次测定样品。由标准曲线得硒浓度($\mu\text{g/L}$)。

6 计算 按下式计算尿中硒的浓度：

$$C = \frac{c \times k \times V}{V_0}$$

式中：C——尿中硒的浓度， $\mu\text{g/L}$ ；c——由标准曲线得硒浓度， $\mu\text{g/L}$ ；V——测定液定容体积，ml； V_0 ——尿取样体积，ml；k——尿样换算成标准比重下浓度的校正系数。

7 说明

7.1 本法的最低检测浓度为 $0.3\mu\text{g/L}$ (按取2ml尿样计)；测定范围为 $0\sim 250\mu\text{g/L}$ ；相对标准偏差为 $1.5\%\sim 7.3\%$ ($n=6$)；尿样加标回收率为 $95.6\%\sim 103.1\%$ (加标浓度 $50\sim 200\mu\text{g/L}$)。

7.2 盐酸溶液和硼氢化钾的浓度对氢化反应的影响大。

7.4 在本法条件下， $50\mu\text{g}$ 铋、 $100\mu\text{g}$ 砷、 $400\mu\text{g}$ 铜、 $500\mu\text{g}$ 锡和碲不干扰测定。

7.5 本法由中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所闫慧芳和张敬等同志研制。