

## 尿中鎳-石墨爐原子吸收光譜儀法

方法編號：BM010	
有害物中文名稱：鎳	有害物英文名稱：Nickel
空氣中容許濃度：1 mg/m <sup>3</sup> (鎳、金屬及不溶性化合物，以鎳計) 0.1 mg/m <sup>3</sup> (可溶性化合物，以鎳計)	
元素：Ni (鎳) 化學文摘社登記號碼：7440-02-0 原子量：58.71 (鎳)	
標的物中文名稱：鎳	標的物英文名稱：Nickel
參考指標值：-- 見附註[1]	化學文摘社登記號碼：7440-02-0
<b>生物檢體採樣</b>	<b>分析方法</b>
檢體樣品：尿液 (spotting urine) 採集時機：下班前 採集器：200 mL 廣口聚乙烯瓶 採集量：50 ~100 mL 樣品保存劑：每 100 mL 加入 1mL 冰醋酸(或 0.35 mL 65% 硝酸) 樣品運送：維持 4°C 以下，24 小時內送達實驗室 樣品穩定性：28 天 (4°C)	分析儀器：石墨爐原子吸收光譜儀 標準樣品：鎳標準品添加於空白尿液 樣品處理：尿液樣品先以去離子水稀釋，一般稀釋倍數為 3 倍。 樣品注入量：20 μL 偵測波長：232 nm
<b>精密度與準確度</b>	<b>檢量線</b>
測試範圍：5~40 μg/L 精密度：2.9 % 回收率：102 % 準確度：94.3 %	檢量線範圍：5~40 μg/L 偵測極限：  μg/L 線性相關係數：大於 0.995
干擾：由於石墨爐原子吸收光譜儀法具有極高的靈敏度，需注意污染問題，如：跨次污染(carry-over)及樣品處理時的污染。製備樣品工作區域必須特別注意保持清潔，並依照玻璃器皿清洗規定方式指示清洗所有玻璃器皿。移液管的管尖經常是造成污染的來源，若懷疑可能受污染，應以 1:5 稀釋比例的硝酸溶液浸洗，再以去離子水充分洗淨。此外，在分析或校正分析結果的過程中試劑空白也須特別小心。熱分解石墨爐管 (pyrolytic graphite) 在生產及處理過程中亦有可能受到污染，在使用前可能需先高溫灼燒 5 至 10 次或依廠商建議之高溫灼熱程式予以清潔石墨管。為避免來自基質的干擾效應，除了將樣品經一定比例稀釋外，可使用氧氣灰化法和基質修飾劑處理技術減少來自基質的干擾。	

附註：

[1] 德國 DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) 訂定鎳致癌物暴露當量值:暴露鎳金屬、碳酸氫鎳、氧化鎳、硫化鎳、硫化礦參見表 1；暴露可溶性鎳化合物參見表 2。一般民眾暴露環境(非職業性)中鎳及其化合物，尿中鎳生物物質參考值 (Biologische Arbeitsstoff Referenzwerte, BAR )為 3 µg/L。

□

表 1 德國訂定鎳暴露 EKA 值(致癌物暴露當量值)：暴露鎳金屬、碳酸氫鎳(nickel carbonate)、氧化鎳、硫化鎳、硫化礦(sulfidic ores)□

空氣中鎳 (mg/m <sup>3</sup> )	尿中鎳 (µg/L)
0.1	15
0.3	30
0.5	45

表 2 德國訂定鎳暴露 EKA 值(致癌物暴露當量值)：暴露在可溶性鎳化合物(醋酸鎳、相似可溶性鹽類(similar soluble salts)、氯化鎳、氫氧化鎳(nickel hydroxide)、硫化鎳)

空氣中鎳 (mg/m <sup>3</sup> )	尿中鎳 (µg/L)
0.025	25
0.050	40
0.100	70

## 1. 試藥

1.1. 鎳標準液1000 mg/L：經驗證之標準溶液，如 CertiPure standard (Merck) 或同等級產品。

1.2. 濃硝酸：Superpure Grade (Merck)或同等級產品。

1.3. 去離子水，其比電阻值 (specific resistance) 需達 $\geq 18\text{M}\Omega\text{-cm}$ 。

1.4. 冰醋酸：試藥級。

1.5. 空白尿液標準品：購買空白尿液標準品後，需使用本分析方法定量分析尿液中鎳，確定無鎳訊號之尿液樣本，才可使用來當做檢量線添加基質使用。

[註] 除非有特別說明，所有的試藥必須符合美國化學學會 (ACS) 分析試藥委員會所列舉的規格。其他等級的試藥亦可使用，但首先必須確定純度夠高(> 99.99%)，不會影響分析的準確度，原則上所有試劑必須經過分析，以供證明其所有成分的含量皆低於方法偵測極限。

## 2. 設備

2.1. 250 mL的廣口聚乙烯瓶。

2.2. 冷凍袋 (如冰寶)。

2.3. 石墨爐原子吸收光譜儀系統：包含自動取樣器與石墨爐式原子化裝置(graphite furnace atomizer)。

2.4. 離心機。

2.5. 震盪器。

2.6. 定量吸管 (pipette)：5及10 mL。

2.7. 離心管：15 mL，附蓋子。

2.8. 微量吸管(micropipettes)：100、500及1000  $\mu$ L。

## 3. 採樣

3.1. 受試者須於收集尿液前換下工作服並洗淨雙手，直接將100 mL尿液收集於預裝有1 mL 冰醋酸之廣口聚乙烯瓶中，混合均勻。將採樣瓶交與採集人員，加上封蓋及貼上樣品標籤。

3.2. 若使用冰寶，先於攜帶式冰箱底層排放一層冰寶，而樣品應置於冰寶夾層中。若使用乾冰，採樣前將整塊乾冰以牛皮紙或舊

報紙包上數層，再放於攜帶式冰箱帶至採集現場。樣品收集後，將乾冰擊成5公分直徑大小碎塊。先於攜帶式冰箱底層鋪放一層乾冰，而樣品應置於乾冰夾層中。樣品應由專人儘速送至實驗室儲存。

□注意：處置乾冰時，應戴棉質厚手套，以免凍傷。

3.3. 樣品在 4 °C 冰箱中可維持 28 天。

#### 4. 檢量線配製

4.1. 以 100  $\mu$ L 定量吸管取 1000 ppm 標準溶液至 10 mL 定量瓶，以空白尿液樣品稀釋至刻度線配成 10 ppm 的儲備溶液。以儲備溶液配製 5 個檢量線標準溶液(範圍 5~40  $\mu$ g/L)，且其分析變異係數(CV)，最低濃度者需小於 20%，而最高濃度者需小於 10%。檢量線標準品需每次重新配製。

#### 5. 樣品前處理

- 5.1. 尿液樣品先置於震盪器上震盪 30 分鐘，再進行 1500 rpm，15 分鐘離心去除沉澱物。
- 5.2. 取 5 mL 尿液樣品測定肌酸酐(creatinine)濃度(g/L， $C_R$ )。
- 5.3. 以定量吸管抽取 4 mL 尿液，加入 4 mL 去離子水，混合均勻，

如有干擾則增加稀釋倍數。

## 6. 儀器操作程序

- 6.1. 所有原子吸收光譜分析需執行適當的背景校正。
- 6.2. 選擇適當的燈管後，通常需要先讓燈管預熱 15 分鐘。
- 6.3. 利用這段期間調整儀器並擦拭透光玻璃，將單光器調至正確波長，選擇適當的單光器狹縫寬度 (slit)，並依照廠商的建議調整電流。
- 6.4. 依照廠商的使用說明，清洗儀器自動採樣器 (autosampler) 之移液管 (pipet) 及管尖。
- 6.5. 調整自動採樣器之方位角度與深度，以使樣品注入達最佳化。
- 6.6. 開啟石墨爐運轉程式，依廠商建議之高溫加熱程式清潔石墨管。
- 6.7 依照廠商的使用建議或文獻資料，設定石墨爐對鎳分析之最適溫控條件。
- 6.8 量測 5 個濃度的標準溶液，繪製吸光度對應濃度建立檢量線。
- 6.9 吸取 20  $\mu\text{L}$  樣品注入石墨爐中使其原子化，以讀取正確的吸光度，再依檢量線換算濃度。假使測得的濃度高於標準溶液的最高濃度，必須將樣品以相同的稀釋液稀釋後再測。多次注射可改善精密度。

【註】 由於不同廠牌及機型的原子吸收光譜儀會有差異，因此  
分析人員在操作儀器時必須遵循該廠商的使用說明書。

表 1 Hitachi 5000 原子吸收光譜儀之儀器分析條件 (參考用)

儀器：Hitachi Z-5000 原子吸收光譜儀

分析條件：

Wavelength	232 nm
Slit	0.2 nm
Lamp type	HCL
Current	12 mA
Signal mode	peak height
Background	Zeeman background correction
Tube type	pyro / platform
Sample volume	20 $\mu$ L

表2 Hitachi 5100 原子吸收光譜儀之升溫程式 (參考用)

	Temp( $^{\circ}$ C)	Ramp(sec)	Hold(sec)	Gas flow(mL/min)
Drying	80	40	0	Ar, 200
Drying	140	40	0	Ar, 200
Ashing	1000	20	0	Ar, 200
Atomization	2700	0	5	Ar, 30
Clean	2800	0	4	Ar, 200
Cool	0	0	17	Ar, 200

## 7.品質管制

7.1. 執行項目：試劑空白、重複分析、基質添加分析及(市售)品管  
樣品。

7.2. 執行頻率：20個樣品或每批次進行。

7.3. 管制範圍：基質添加回收率範圍在75%~125%，回收率最高值和最低值相差應在40%之內。品管樣品準確度範圍在± 25 %，精密度 < 25 %。

$$\text{添加回收率(\%)} = \frac{C_{urine}}{C_{spike}} \times 100$$

$C_{urine}$ ：尿液檢測之濃度(μg/L)

$C_{spike}$ ：尿液標準品添加濃度(μg/L)

## 8. 計算

8.1. 以檢量線樣品分析之吸光值對濃度做檢量線，據以計算尿液中檢測之濃度。

尿液檢測物之濃度( $C_{urine}$ ) = [(積分面積 - 檢量線截距) / 斜率] × 稀釋倍數

8.2. 計算每克肌酸酐檢測物之含量

$$C(\text{g/g creatinine}) = \frac{C_{urine}}{C_R} \times 1000$$

$C_{urine}$ ：尿液檢測之濃度 (μg/mL)

$C_R$ ：尿液肌酸酐之濃度(g/L)

## 9. 方法的評估

### (1) 精密度評估

	樣品數	添加濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	檢測值 ( $\mu\text{g/L}$ )	變異係數(%)
LEVEL-1	3	16.7	16.07	4.5
LEVEL-2	3	33.3	31.01	6.7

### (2) 準確度評估

	分析次 數(n)	確認值 ( $\mu\text{g/L}$ )	檢測值 ( $\mu\text{g/L}$ )	準確度(%)
Lyphocheck Urine Metals Control (Level 2)	3	24.7	23.3	94.3

市售標準品：Lyphocheck Urine Metals Control (Toxic metal in freeze dry urine) Level 2 (購自 Bio-Rad 公司之市售標準品)。

### (3) 添加回收率

	樣品數(n)	添加濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	檢測值 ( $\mu\text{g/L}$ )	添加回收率 (%)
基質添加-1	3	16.7	16.07	96.2
基質添加-2	3	33.3	31.01	93.4

## 參考文獻

- [1] 行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所，2004；” IOSH93-A308 製造業勞工鎳暴露調查研究”。
- [2] ACGIH□“ TLVs<sup>®</sup> and BEI<sup>®</sup> based on the Documentation of the Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices”, 2010 ; Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). p104.
- [3] Deutsche Forschungsgemeinschaft, ed., List of MAK and BAT Values 2009: Maximum Concentrations and Biological Tolerance Values at the Workplace, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2009.

## 方法撰寫人員

### 1.1 方法開發

撰寫日期：民國 100 年 5 月

楊秀宜，勞工安全衛生研究所

### 1.2 方法評估

楊佩芝，高雄榮總病理檢驗科生化室