

尿中錳-石墨爐原子吸收光譜儀法

方法編號：BM007	
有害物中文名稱：錳 空氣中容許濃度：1 mg/m ³ (煙煙) 5 mg/m ³ (錳及其無機化合物)	
有害物英文名稱：Manganese 化學文摘社登記號碼：7439-96-5	
分子式：Mn (錳) 分子量：54.94 (錳)	
標的物中文名稱：錳 參考指標值：-- 見附註[1]	
標的物英文名稱：Manganese 化學文摘社登記號碼：7439-96-5	
<p style="text-align: center;">生物檢體採樣</p> 檢體樣品：尿液 (spotting urine) 採集時機： 採集器：200 mL 廣口塑膠瓶 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：8 天 (4°C)	<p style="text-align: center;">分析方法</p> 分析儀器：石墨爐原子吸收光譜儀 待測物：錳 基質修飾劑：Pd-Mg 複合基質修飾劑(含 800 ppm Pd 及 600 ppm Mg) 標準樣品：待測物添加於空白尿液 樣品處理：尿液樣品先以去離子水稀釋，一般稀釋倍數為 2 倍。 樣品注入量：20 μL Pd-Mg 複合基質修飾劑：10 μL 偵測波長：279.5 nm
<p style="text-align: center;">精密度與準確度</p> 測試範圍：0.5~20 μg/L 精密度：8.5 % 回收率：96.9 % 準確度：92.8 % 見附註[2]	<p style="text-align: center;">檢量線</p> 檢量線範圍：0.5~20 μg/L 偵測極限：3.2 pg 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，因此跨次污染(carry-over)及樣品的污染成為其誤差的主要來源。因此在製備樣品的工作區域必須特別注意保持清潔，所有玻璃器皿應依照玻璃器皿清洗規定方式指示清洗。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熱 5 至 10 次或依廠商建議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效應。	

附註：

[1] 加拿大職業安全衛生中心頒定錳生物指標值(一般民眾)-尿液中錳濃度需小於 3 $\mu\text{mol/mol Cr}$ (1.46 $\mu\text{g/g Cr}$)，而且並無註明尿液採集時間；Risk Assessment Information System (RAIS)認為尿液中錳濃度大於 10 $\mu\text{g/L}$ 即為錳過量暴露 (overexposure) 。[2] 準確度測定以NIST SRM 2670 (toxic metal in freeze dry urine)做為尿液標準品(濃度 3 $\mu\text{g/L}$)。

1. 試藥

- 1.1. 錳標準液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. Pd (NO₃)₂ 溶液，1%。
- 1.4. Mg (NO₃)₂溶液，1%。
- 1.5. Pd- Mg 複合式基質修飾劑，分別取出4 mL Pd (NO₃)₂ 及 3 mL Mg (NO₃)₂ 置於定量瓶中，並加入去離子水至50 mL刻度。
- 1.6. 去離子水，其比電阻 (Specific resistance) 需達 $\geq 18\text{M } \Omega\text{-cm}$ 。

[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，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. 250mL的聚乙烯瓶
- 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、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、10mL
- 2.7. 離心管附蓋子15mL
- 2.8. 微量吸管(micropipettes)，100、500及1000 μL

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 冰醋酸之廣口塑膠瓶中，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，將乾冰擊成五公分直徑大小碎塊。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。樣品應由專人盡快送至實驗室儲存。

*注意：處置乾冰時，應戴棉質厚手套，以免灼傷。

3.3. 樣品在 4 °C 冰箱中，樣品可維持 8 天。

4. 樣品前處理

4.1. 尿液樣品先置於震盪器上30分鐘，再進行1500 rpm 15分鐘離心去除沉澱物。

4.2. 取5 mL尿液樣品做肌酸酐(creatinine)濃度(g/L， C_R)測定。

4.3. 以定量吸管抽取 4 mL尿液，加入 4 mL 去離子水，混合均勻。

5. 分析方法

5.1. 儀器設定條件

5.1.1. 所有原子吸收光譜分析需執行適當的背景校正。

5.1.2. 選擇適當的燈管後，通常需要先讓燈管預熱 15 分鐘。

5.1.3. 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。

5.1.4. 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。

5.1.5. 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。

5.1.6. 開起石墨爐運轉程式，依廠商建議高溫加熱程式以清潔石墨管。

5.1.7. 石墨爐之最適昇溫條件。表一係以 Perkin Elmer 5100 PC AAS 機型為例，所建立之血中鉛分析之最佳溫控條件。

5.1.8. 量測一系列待測標準溶液，繪製吸光度對應濃度建立檢量線。

5.1.9. 將一已知體積的樣品注入石墨爐中原子化，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。大約每注入 10 個樣品後，需分析一次查核標準溶液，此部分目的是為了監視石墨管的壽命及性能。當缺乏再現性或訊號值出現明顯的改變時表示須更換新的石墨管。

表一、Perkin Elmer Analyst 原子吸收光譜儀之儀器分析條件 (參考用)

Wavelength	279.5 nm
Slit	0.2 nm
Lamp type	HCL
Current	20 mA
Signal mode	Peak area
Background	Zeeman background correction
Tube type	Pyro / Platform
Sample volume	20 μ L

	Temp(°C)	Ramp(sec)	Hold(sec)	Gasflow(ml /min)
Drying	90	10	20	Ar, 250
Drying	130	10	30	Ar, 250
Ashing	1300	10	20	Ar, 250
Atomization	2100	0	5	--
Clean out	2450	1	3	Ar, 250

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

6. 檢量線與品質管制

6.1. 檢量線樣品

6.1.1. 標準品以空白尿液稀釋至分析範圍0.5~20 ppb濃度，檢量線標準品需每次新鮮配製。

6.1.2. 取標準溶液進行分析，每個濃度溶液至少需分析三次，以其平均值建立校正曲線。檢量線線性相關係數(r)需大於0.995以上，才能進行後續的分析工作；若小於0.995時，則需重新配製檢量線溶液。

*空白尿液樣品：從健康非職業暴露 (non-occupational exposure)者採集尿液樣本，採集後需使用此分析方法定量分析尿液中錳，確定無錳訊號之尿液樣本，才可取等量混合。需混合五個以上之無訊號尿液樣本，此混合尿液樣本用來當做檢量線添加基質使用。

7.2. 品質管制

7.2.1. 添加樣品-採集5~10正常非暴露者之尿液並予以均勻混

合，再以標準品添加方式製備基質空白、5 µg/L、10 µg/L 濃度樣品各二個。添加樣品與現場樣品同時做前處理。

7.2.2. 每分析10個樣品，測試一次檢量線標準品，以檢查儀器的狀況是否穩定。

7.2.3. 每分析10個樣品，至少測試一次添加樣品，以檢查回收率。

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

C_u : 尿液中待測濃度(µg/L)

C_{spike} : 尿液中標準品添加濃度(µg/L)

8. 計算

8.1. 以檢量線樣品分析圖譜之積分面積對濃度做檢量線，據以計算尿液中待測物濃度。

尿液中待測物濃度(C_u) = (積分面積 - 檢量線截距) × 稀釋倍數 / 檢量線斜率

8.2. 計算每克肌酸酐中錳含量

$$C(\mu\text{g}/\text{mg Crn}) = \frac{C_u}{C_R} \times 10^{-3}$$

C_u : 尿液中待測物濃度 (µg/mL)

C_R : 尿液中肌酸酐濃度(g/L)

9. 方法的評估

(1) 精密度評估

	樣品數	平均值 (µg/L)	標準偏差 (µg/L)	變異係數(%)
同日重覆分析	8	1.31	0.07	5.3

異日重覆分析	8	1.29	0.11	8.5
--------	---	------	------	-----

(2) 準確度評估

分析實驗室	分析次數(n)	確認值 ($\mu\text{g/L}$)	結果($\mu\text{g/L}$)	相對誤差
清大	5	3.00	2.82	0.14
高醫	5	3.00	2.75	0.12

市售標準品：NIST SRM 2670 (Toxic metal in freeze dry urine)

註：pair t test : $p > 0.05$

(3) 實驗室驗證

添加濃度($\mu\text{g/L}$)	樣品數(n)	添加回收率(%)	變異係數(%)
5	6	95.6	7.6
7	6	94.8	5.2
10	6	98.6	3.8
20	6	101.2	3.2

驗證單位：中國醫藥大學公共衛生學系

平均添加回收率：97.6 %

參考文獻

- [1] 行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所，1994；"IOSH83-A208 職業性錳暴露之生物偵測方法研究"。
- [2] "TLVs[®] and BEI[®] based on the Documentation of the Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure indices", 2009 ; Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 104.
- [3] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2000. Toxicological profile for Manganese. Atlanta, GA: U. S.

Department of Health and Human Services, Public Health Service.

- [4] Toxicity Summary for Manganese. [Risk Assessment Information System, Oak Ridge National Laboratory](#).
http://www.welding-rod-dangers.com/illness/illness_manganism_detect.htm

方法撰寫人員

1.1 方法開發

撰寫日期：民國 98 年 3 月

楊秀宜，勞工安全衛生研究所

1.2 方法評估

吳錦景，中國醫藥大學公共衛生學系