

尿中砷氫化-原子吸收光譜法

方法編號：BM008	
有害物中文名：砷	有害物英文名：Arsenic
空氣中容許濃度： 砷化氫：0.05ppm 無機砷 0.01mg/m ³ 有機砷 0.5mg/m ³	化學符號：As 原子量：74.92 CAS 編號：7784-42-1
標的物中文名：尿中砷	標的物英文名：Arsenic in Urine
指標值：50 μg/g Cre[1] 代表式：As/U	
生物檢體採樣	分析方法
檢體樣本：尿液 採集時機：工作週下班前 採集量：50~150 mL 採集器：200mL 廣口塑膠瓶 尿液防腐劑：鹽酸數滴 樣品運送方式：維持 4°C 樣品儲存：一週(4°C) 八週(-20°C)	分析儀器：氫化-原子吸收光譜儀(HG-AAS) 前還原劑：10% L-Cysteine / 0.03M HCl 還原劑：0.5%NaBH ₄ / 0.05%NaOH 待測物：1mL 尿液+1mL 前還原劑以 0.03M HCl 稀釋至 10mL 檢量線溶液：標準液+1mL 前還原劑以 0.03M HCl 稀釋至 10mL 進樣體積：500 μL 偵測波長：193.7 nm 光源：EDL 燈管無背景校正
精密度與準確度	檢量線
測試範圍：2.0 ~ 10.0 μg/L 回收率：98~105% 精密度：(Within): CV ≤ 2 % (Between): CV ≤ 7 % 準確度：(總砷) high level (~160 μg/L): RE% ≤ 4.5% low level (~60 μg/L): RE% ≤ 1.4%	檢量線範圍：1.0 ~ 15 μg/L 偵測極限：0.1 μg/L
適用範圍： 本方法適用於三價砷人體有害物(As ⁺³)與五價砷(As ⁺⁵)及其代謝物單甲基砷(MMA)與雙甲基砷(DMA)之分析，不會受無毒性的砷酸甜菜鹼(Arsenobetain)干擾。[3]	
附註： (1)根據勞工安全衛生研究所編號 IOSH88-A303 研究計畫成果訂定[5]。 (2)根據美國 ACGIH 建議於工作週下班前採集之尿中無機砷及其代謝物 BEI 值為 50 μg/g creatinine[1]	

1. 試劑

- 1.1. 砷原子吸收分析標準溶液：1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (以 As 計)。
- 1.2. 濃鹽酸 (HCl)，37%，分析級。
- 1.3. 氫氧化鈉 (NaOH)，分析級。
- 1.4. 硼氫化鈉 (NaBH_4)，分析級。
- 1.5. L-半胱氨酸(L-Cysteine)，分析級。
- 1.6. 抗發泡劑，30%，分子生物實驗級。
- 1.7. 高純氮：99.99%。
- 1.8. 去離子水：18M Ω -cm。
- 1.9. 稀釋溶液 0.03M HCl：取 1 L 定量瓶裝入一半的去離子水再加入 3 mL 37% 濃鹽酸，以去離子水稀釋至刻度。
- 1.10. 稀釋溶液 0.05%(w/v) NaOH：取 1 L 定量瓶裝入約 0.5g 氫氧化鈉再以去離子水稀釋至刻度。
- 1.11. 前還原劑 10% L-Cysteine：取 100 mL 定量瓶裝入 10g L-Cysteine 再以 0.03 M HCl (參見 1.9) 稀釋至刻度。
- 1.12. 分析還原劑 0.5% NaBH_4 ：取 500 mL 定量瓶裝入約 2.5g 硼氫化鈉再以 0.05% NaOH (參見 1.10)稀釋至刻度，使用前加入 0.5 mL 的抗發泡劑，充分混合。
- 1.13. 載流溶液(carrier solution) 0.1% HCl：於 1 L 定量瓶中，加去離子水 900mL，再加入 1.0mL 濃鹽酸，充分混合後，加去離子水至刻度。
- 1.14. 檢量線儲備溶液 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$:以微量吸管取 0.1 mL 之 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準溶液於 100 mL 定量瓶，以 0.03M HCl 溶液稀釋至刻度，定為儲備溶液(A)。以不同廠牌標準溶液製備儲備溶液(B)。儲備溶液儲存於 100 mL 的玻璃瓶中，每週更新。

2. 設備

- 2.1.檢體採集器：200 mL PE 材質廣口塑膠瓶。

- 塑膠廣口瓶及玻璃器皿皆經 1:1 硝酸浸泡 24 小時以上，再除去離子水清洗後，晾乾備用。
 - 2.2. 檢體運送：攜帶式冰箱、冰寶六個以上或乾冰二公斤以上，以能維持冰箱溫度 4°C 以下為原則。
 - 2.3. 定量瓶：10, 100, 500, 1000 mL。
 - 2.4. 定量吸管：0.5, 1, 10 mL。
 - 2.5. 原子吸收光譜儀：採用搭配氫化裝置(hydride generator)之原子吸收光譜儀。
 - 2.6. 砷無電極放電燈管(electrode-less discharge lamp, EDL)。
3. 檢體採集、運送及儲存
- 3.1. 於每工作週下班前收集約 100 mL 勞工尿液，分出約 10 mL 尿液測量其肌酸酐(Creatinine, Cre)含量，以作為樣品濃度校正的參數。
 - 3.2. 接受檢體採集人員需事前換下工作服並洗淨雙手，直接將尿液收集於 200 mL 廣口塑膠瓶中，每一樣品應至少收集 50 mL。將採集瓶交於採集人員，加上封蓋及貼上樣品標籤。
 - 3.3. 運送(溫度維持 4°C 以下)：樣品應由專人儘快送至分析實驗室儲存。
 - 3.3.1. 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。
 - 3.3.2. 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。
 - 注意：處置乾冰時，應戴棉質厚手套，以免凍傷。
 - 3.4. 儲存：在 100 mL 尿液中加入 0.35 mL 37% 濃鹽酸，使 pH 值維持在 2~3，酸化後的尿液在 4°C 下可保存一週，在 -20°C 冷凍櫃中，樣品可維持八週。

4. 檢量線與品管樣品

4.1. 檢量線樣品

4.1.1. 加已知量的儲備溶液於 10 mL 定量瓶中，再加入 1 mL 前還原劑(10% L-Cysteine)，以 0.03M HCl 溶液稀釋至刻度，靜置 1 小時。檢量線濃度為 1、3、6、9、12 及 15 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。檢量線溶液需每日配製。

4.1.2. 檢量線標準溶液需由兩個不同之儲備溶液配製 6 點，一、三、五點來自儲備溶液(A)，而二、四、六點來自儲備溶液(B)，最低(第一點)與最高(第六點)濃度需製備三重複樣品；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%。

4.1.3. 以原子吸收光譜中吸光度或吸光度波峰面積對砷的濃度繪製檢量線。檢量線之線性相關係數應大於 0.995。

4.2. 品管樣品

4.2.1. 取 5 位沒有砷職業暴露個人尿液等量混合，作為添加樣品(spiked sample)之尿液空白。取三支 10mL 定量瓶，分別以定量吸管吸取 0.5 與 1mL 儲備溶液，再以尿液空白稀釋至刻度，製成 50 與 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 濃度之添加樣品。

4.2.2. 在分析勞工尿液樣品前，須先分析 4.2.1 的尿液空白與添加樣品，並計算其回收率，其容許範圍為 75~125%。

4.2.3. 每 10 個樣品，測試一次檢量線標準品，以確認儀器的狀況是否穩定，其容許範圍為 80~120%。

5. 樣品前準備

5.1. 儲存於冰箱之檢體，在分析的前一天，必須取出讓其回溫至室溫。

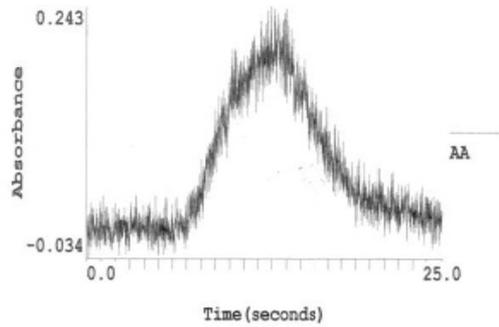
5.2. 以微量吸管 1mL 的樣本溶液注入 10mL 定量瓶中，加入 1mL 前還原劑，以 0.03M HCl 溶液稀釋至刻度後靜置 1 小時。

6. 儀器分析

6.1. 儀器分析條件

	條 件
儀 器	氫化—原子吸收光譜儀
偵測波長	193.7 nm
光柵(slit)	0.7 nm
燈 管	EDL
燈管電流	380 mA
Carrier gas	高純氮，50 mL/min
樣品槽溫度	900°C
FIAS 設定	
樣品體積	500 μ L sample loop
稀釋劑	0.05% HCl
Programe	
Prefill	10 sec
Step 1	15 sec
Step 2	35 sec (Read)
Pump1	100 rpm
Pump2	60 rpm
註：以 Perkin-Elmer Aanalyt 800/FIAS-400 為例，如使用其它廠牌同級儀器時分析條件需另訂之。	

6.2. 原子吸收光譜



註：分析物為 6 $\mu\text{g/L}$ As

6.3. 以電子積分器或其他適當之面積方法計算吸光度積分面積，單位為 A-sec。

6.4. 如果樣品的吸光度，大於儀器測定的線性範圍，需以 0.03 M HCl 稀釋之並重新測定，計算濃度時，需乘以稀釋倍數。

7. 計算

依據測量所得的吸收值，以檢量線計算出相對應的濃度，樣品濃度 C_s ，空白樣品濃度 C_b ，並依下式計算尿液中砷濃度 $C_{As/U}$ 。(報告之數據以 $\mu\text{g/L}$ 表示)

$$C_{As/U} = (C_s - C_b)f$$

C_s : 樣品濃度($\mu\text{g/L}$)

C_b : 空白樣品濃度($\mu\text{g/L}$)

f: 稀釋比例(為前處理時 10 倍稀釋與步驟 6.4 中稀釋倍數的相乘積)

Spot Urine Creatinine 校正

$$C_{As/Crt}(\mu\text{g/g creatinine}) = C_{As/U}(\mu\text{g/L})/C_{Crt/U}(\text{g/L})$$

$C_{As/U}$: 尿液中砷濃度($\mu\text{g/L}$)

$C_{Crt/U}$: 尿液中 creatinine 濃度(g/L)

8. 數據說明

8.1. 根據美國 ACGIH 建議於工作週結束前採集之尿中無機砷 BEI 值為 $35 \mu\text{g As/L}$ 。

8.2. 德國國家衛生研究院(DFG)的職業暴露容許值(BAT)為 $50 \mu\text{g/L}$ 。

8.3. 加拿大所頒訂尿中砷的正常值為小於 $53 \mu\text{g/g Cre}$ ($80 \mu\text{mol/mol Cre}$)，警告值為 $53 \mu\text{g/g Cre}$ ($80 \mu\text{mol/mol Cre}$)。

9. 方法評估

回收率 / 精密度 評估

添加濃度 (ug /L)	樣品數	回收率 (%)	變異係數(%)
10	3	105.5	0.52
15	3	98.5	0.02

準確度

市售標準品	分析次數	確認值 (ug /L)	結果 (ug /L)	準確度 (%)
Bio-rad Lyphocheck [®] Level 1-69131	3	65.1	64.2 ± 1.1	1.4
Bio-rad Lyphocheck [®] Level 2-69132	3	157	149.9 ± 6.9	4.5

10. 參考文獻

[1] 行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所八十二年度研究計畫 (IOSH82-A111)：由勞工健康保護規則及國外有關制度探討我國生物偵測技術之建立(Biological Monitoring Program in Occupational Health Protection - the Planning Year) P27~P49 (1993).

[2] Tsalev, D.L., 1984; "Atomic Absorption Spectrometry in

Occupational and Environmental Health Practice " Volume II,
Determination of Individual Elements, , chapter 20.

- [3] Guo, T., Baasner, J., Tsalev, D.L., 1997;"Fast automated determination of toxicologically relevant arsenic in urine by flow injection-hydride generation atomic absorption spectrometry", Anal. Chim. Acta, 349, 313-318.
- [4] Bonnie, L.C., Harry, V.E. III, Joy, L.M., 1986; "Toxicology and Biological Monitoring of Metals in Humans", 151.
- [5] 行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所八十八年度研究計畫 (IOSH88-A303)：砷生物偵測物種分析研究。

方法撰寫人員

- 1.1 方法開發 撰寫日期：民國 99 年 12 月
謝俊明，勞工安全衛生研究所
- 1.2 方法評估
楊秀宜，勞工安全衛生研究所