

Konservering av metaller i urin

Yngvar Thomassen

HD 705/77.

ARBEIDSFORSKNINGSINSTITUTTENE
BIBLIOTEKET
Gydas vei 8
Postboks 8149 Oslo Dep. Oslo 1

Innholdsfortegnelse:

Sammendrag.	side 1
Innledning.	" 2
Konservering av metaller i urin.	" 3
Undersøkelse av stabiliteten av metallioner i urin.	" 5
Analysemetoder og analyseresultater.	" 5
Diskusjon.	" 12
Undersøkelse av forurensning fra plastflasker benyttet til prøvetaking.	" 13
Litteraturhenvisninger	" 16

SAMMENDRAG

Holdbarheten av urinprøver med hensyn til sporelementer er blitt undersøkt over en periode på 28 dager. Intet eller ubetydelig tap av metaller fra ukonserverte løsninger er blitt påvist. EDTA-tilsetningen til urinflasker er derfor opphørt. Analyseresultatene derimot viser at både presisjonen og nøyaktigheten av rutineanalysene for metallene Cd, Ni, Pb og Hg var lite tilfredsstillende i perioden november - desember 1976.

Videre er endel vaskerutiner for urinflasker blitt undersøkt. Resultatene av denne undersøkelse har ført til en gjenninnføring av syrevask av plastflasker ved Yrkeshygienisk institutt.

INNLEDNING

Urin er en biologisk væske hvor en rekke av de kjemiske komponentene enten kan ødelegges eller omdannes i løpet av kort tid etter urinering. Forandringene kan skyldes både oksydasjon, fotolyse, groing og metabolisme av mikroorganismer eller hydrolyse av organiske forbindelser. Dessuten vil en rekke kjemiske forbindelser felles ut og danne bunnfall, oftest på grunn av forandringer i pH og temperatur. En rekke kjemiske konserveringsmidler blir benyttet for å hindre eller minimalisere forandringer i urinene slik at denne kan lagres eller transporteres for senere studier.

Konserveringsmetoder

Det finnes en rekke metoder for konservering av komponenter i urin;

- a. Frysing: Frysing resulterer som regel i en forstyrrelse av saltene og kolloidene i urinen. Ved tining vil ikke urinen lenger være klar og homogen, men den vil inneholde suspendert bunnfall som ikke går i løsning. Ved Yrkeshygienisk institutt har det i lengre tid blitt benyttet EDTA-tilsetning for å bedre løseligheten av dette bunnfallet. Effekten av denne tilsetningen har vært liten.
- b. Kjøling: Hvis ikke urinen analyseres direkte, er kjøling en av de mest attraktive konserveringsmetoder med hensyn til de kjemiske komponentene. De fleste av de nedbrytende reaksjoner vil minimaliseres slik at meningsfulle bestemmelser på mange komponenter kan utføres selv etter lagring i 24 timer og lengre. Mer enn halvparten av urinprøvene vil danne bunnfall som imidlertid går fullstendig i løsning ved oppvarming av urinene til en temperatur noe over værelsestemperatur.
- c. Kommersiell konservering: Det er utviklet en del kommersielt tilgjengelige preparater enten i form av tabletter eller løsning som vil konservere urinen med hensyn til en rekke komponenter.
- d. Laboratoriekjemikalier: En rekke enkle tilsetningsmidler som formalin, toluen, kloroform, fenol, thymol, natriumkarbonat, borsyre og natriumklorid/PVP løsning (polyvinylpyrrolidon) vil konservere urinen med hensyn til én eller flere komponenter.

Konservering av metaller i urin

Metaller i urin foreligger i urin ved prøvetaking enten løst eller adsorbent/bestandel på/i suspendert materiale (partikulært materiale).

Ved lagring av urin kan metallfordelingen i urinen forskyves vesentlig.

Metall i løsning kan nedfelles i bunnfall.

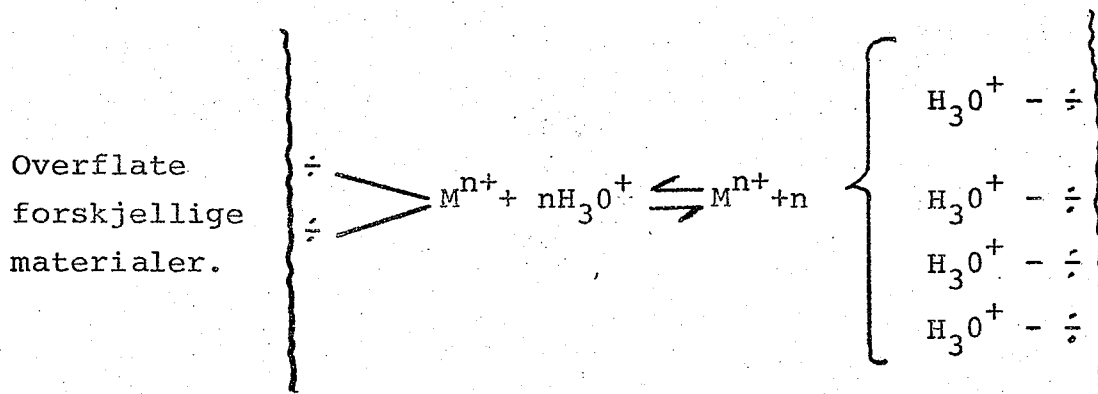
Metall i løsning kan adsorberes til suspendert materiale.

Metall i løsning kan adsorberes til overflaten av urinflasken.

Det alvorligste tap av metaller i urin vil skyldes adsorpsjon til flaskeoverflaten.

Medfelling i bunnfall eller adsorpsjon til suspendert materiale har ingen betydning for analyseresultatet, så lenge bunnfallet løses ved oppvarming eller en homogen, representativ prøve kan pipetteres fra urinen.

Tap av metaller til forskjellige overflater forhindres ved pH-verdier lavere enn 2. Da vil likevekten



forskyves til høyre.

Følgelig vil en syrekonservering av urinprøver forhindre et slikt tap. Likeledes vil andre forbindelser som kompleksbindermetallioner sterkere enn overflater av forskjellige materialer (f.eks. polyetylen, glass ---) kunne eliminere slike adsorpsjonstap. En rekke komponenter i urin har også en sterk kompleksdannende evne.

Litteraturen sier lite om stabiliteten av metaller i urin. For kvikksølv har det vist seg nødvendig å konservere urinprøvene for å unngå et tap på inntil 20%. (1,2,3)

Undersøkelse av stabiliteten av metallioner i urin.

Fordi det er lite kjent hvordan stabiliteten av spor-
elementer i urinprøver er , har det blitt utført et lagrings-
forsøk for en rekke metaller som bestemmes i urin ved
Yrkeshygienisk institutt.

Metallene As, Cd, Cr, Hg, Ni og Pb er tilsatt utrin
etter følgende metode:

Tabell 1: Tillaging av urinprøver for undersøkelse
av holdbarhet med hensyn til sporelementer.

Urin nr.	Konserveringsmiddel	Konsentrasjon tilsatt $\mu\text{g/l}$
1.	Ikke konservert	10
2.	Ikke konservert	100
3.	Ikke konservert	1000
4.	Na_4EDTA 1mg/ml	10
5.	Na_4EDTA 1mg/ml	100
6.	Na_4EDTA 1mg/ml	1000
7.	HNO_3 til pH 2	10
8.	HNO_3 til pH 2	100
9.	HNO_3 til pH 2	1000

Urinprøvene er i tillegg oppbevart i kjøleskap ($4-8^\circ\text{C}$).

Analysemetoder og analyseresultater:

As: Spektrofotometri. Metode beskrevet i (4).

Cd: Atomabsorpsjon. Metode beskrevet i (4).

Cr: Atomabsorpsjon. Elektrotermisk atomisering for konsentra-
sjonen $100 \mu\text{g/l}$. Direkte bestemmelse ved atomisering i
flamme for $1000 \mu\text{g/l}$.

Hg: Atomabsorpsjon, Kalddampteknikk. Metode beskrevet i (4).

Ni: Atomabsorpsjon. Metode beskrevet i (4).

Pb: Atomabsorpsjon. Metode beskrevet i (4).

Tabell 2: Analyseresultater for As.

% gjenfunnet etter lagring.

Urin nr.	Od	4d	6d	10d	28d	\bar{X}_a^a	\bar{X}_b^b
1	100	113	120	108	116	111	7.0
2	100	98	94	94	98	97	2.8
3	100	112	96	101	115	105	7.9
4	100	122	135	120	130	121	11
5	100	104	109	104	129	109	11
6	100	103	87	92	105	97	7.8
7	100	115	121	123	128	117	9.2
8	100	93	82	83	103	92	10
9	100	93	83	87	99	92	8
\bar{X}_b^c		106	103	101	114		
C_b^d		9.7	18	14	12		

- a) \bar{X}_a = Midlere gjenvinningsprosent for hver individuell prøve referert til Od.
- b) \bar{X}_b = Midlere gjenvinningsprosent for hver analysedag referert til Od.
- c) C_a
- d) C_b = relativt standard avvik i % for seriene a og b.

Tabell 3: Analyseresultater for Cd.

% gjenfunnet etter lagring.

Urin nr.	0d	4d	6d	10d	28d	\bar{X}_a	Ca
1	100	133	100	122	89	109	17
2	100	108	104	127	105	109	9.7
3	100	109	114	131	103	111	11
4	100	111	111	122	89	107	12
5	100	101	107	132	98	108	13
6	100	102	103	141	99	109	16
7	100	111	100	122	78	102	16
8	100	102	99	131	92	105	14
9	100	106	107	139	105	111	14
\bar{X}_b		109	105	130	95		
Cb		8.9	5.0	5.5	9.5		

Tabell 4: Analyseresultater for Cr.

% gjenfunnet etter lagring.

Urin nr.	0d	1d	4d	6d	10d	28d	\bar{X}_a	Ca
1			✕					
2	100	95	93	98	96	96	96	2.5
3	100	97	98	99	96	93	97	2.6
4			✕					
5	100	101	103	99	99	103	101	1.8
6	100	100	99	99	100	96	99	1.6
7			✕					
8	100	100	96	100	95	93	97	3.2
9	100	100	98	98	98	96	98	1.5
\bar{X}_b		99	98	99	97	96		
Cb		2.3	3.4	0.8	2.0	3.8		

✕ Ikke analysert på grunn av manglende bakgrunnskorrektor.

Tabell 5: Analyseresultater for Ni.

% gjenfunnet etter lagring.

Urin nr.	0d	4d	6d	10d	28d	\bar{X}_a	Ca
1	100	100	111	78	67	91	20
2	100	97	133	97	76	101	20
3	100	105	119	113	83	104	13
4	100	82	91	64	64	80	20
5	100	104	142	104	62	102	28
6	100	110	120	111	80	104	15
7	100	100	111	78	72	92	18
8	100	107	148	107	86	110	21
9	100	103	113	105	84	101	11
\bar{X}_b		101	121	95	75		
Cb		8.0	15	18	12		

Tabell 6: Analyseresultater for Pb.

% gjenfunnet etter lagring.

Urin nr.	0d	4d	6d	10d	28d	\bar{X}_a	Ca
1	100	157	200	171	200	166	25
2	100	79	57	67	65	74	23
3	100	102	100	100	108	102	3.4
4	100	118	127	109	191	129	28
5	100	128	84	82	66	92	25
6	100	113	108	101	101	105	5.4
7	100	120	130	150	100	120	18
8	100	117	113	117	119	114	6.2
9	100	106	114	120	116	111	7.3
\bar{X}_b		116	115	113	118		
Cb		18	34	28	40		

Tabell 7: Analyseresultater for Hg.

Urin nr.	0d	1d	4d	6d	10d	18d	48d	\bar{X}_a	Ca
1	100	63	116	108	112	97	123	103	19
2	100	98	111	104	104	96	97	102	4.
3	100	40	55	53	63	81	88	69	31
4	100	87	100	89	89	83	129	97	16
5	100	104	106	102	103	103	105	103	1.
6	100	82	104	98	143	143	145	116	23
7	100	82	114	104	104	96	124	103	13
8	100	95	101	92	106	101	107	100	5.
9	100	96	107	107	96	104	104	102	4.
\bar{X}_b		83	102	95	102	100	114		
Cb		24	18	18	21	18	16		

Diskusjon.

Hvordan stabiliteten av metaller er i ukonsentrert urin er det vanskelig å uttale seg om på grunnlag av resultatene. Presisjonen ved bestemmelse av metaller i urin er altfor dårlig. Den bør være bedre enn 5%. Et tap av metaller fra urin til plastveggene kan vanskelig bli statistisk signifikant med en så dårlig presisjon. De fleste metallanalyser (Cr et unntak) viser både en generell dårlig presisjon og store systematiske feil for enkelte analysedager.

Kromurinene (uttak fra hver analysedag) ble konservert med et stort overskudd av saltpetersyre og tilslutt analysert samme dag. Både de flammeløse og flammedataene viser en tilfredsstillende presisjon. Videre viser resultatene et ubetydelig tap på et par prosent i løpet av 28 dager. Generelt vil de fleste spormetaller forholde seg som krom. Et unntak er kvikksølv hvor et tidlig tap ofte har vist seg (1, 2, 3).

Resultatene viser at ukonservert urin som oppbevares ved 4 - 8 °C er holdbar.

Siden tapet av spormetaller fra ukonservert urinprøver er ubetydelig, er det ikke nødvendig å konservere urinprøvene.

EDTA-tilsetning til urinflasker er blitt benyttet ved Yrkeshygienisk institutt fra midten av sekstiårene (for å hindre dannelse av uløselig bunnfall). Denne tilsetningen er nå blitt fjernet fordi EDTA-saltet inneholder metaller tilsvarende en normalpersons urin. (1 mg EDTA/ml urin).

Rutineanalysene som er blitt utført i perioden november 76 - desember 76 har vært beheftet med en generell dårlig presisjon. Mye av denne dårlige presisjonen skyldes de analysemetodene som er blitt benyttet. Det er ikke tidligere blitt utført et tilsvarende analysearbeid over tid som kunne knyttes til en intralaboratoriekontroll. Laboratoriepersonalet har av den grunn ikke kunnet vite kvaliteten av det daglige arbeid de utfører. Mest betenkelig fra et analytisk synspunkt er de systematiske feilene som av og til forekommer i denne analyseserien. Likeledes ser det ut for at enkelte prøver er blitt forurenset under behandlingen på laboratoriet.

For å få kontroll med analysekvaliteten vil det så raskt som mulig bli innført en permanent intralaboratoriekontroll ved Yrkeshygieniske institutt. Standarduriner og standard blodprøver vil porsjoneres til et antall som vil kunne benyttes ca. et år. Disse prøvene vil alltid bli analysert sammen med rutineanalysene for å ha kontroll med reproduserbarheten fra dag til dag og nøyaktigheten. Videre vil disse prøvene kunne sendes til andre laboratorier for interlaboratoriekontroll.

I løpet av 1977 har metallanalyser i urin blitt overført til elektrotermisk atomisering, noe som har ført til en vesentlig bedre presisjon og lavere bestemmelsesgrense.

Undersøkelse av forurensning fra plastflasker benyttet til urinprøvetaking.

Nye polyetylenflasker gir alltid metaller fra seg ved syrevasking. Derfor må nye plastflasker som benyttes til løsninger for sporelementbestemmelser alltid vaskes med syre. Syrevaskede flasker vil likeledes adsorbere metaller fra løsning hvis den kompleksdannende evne til plastoverflaten er større enn de forskjellige komponenter i løsning. Siden vi neppe har noe lagringstap av metaller fra urinprøver, tyder dette på at den komplekserende effekt av urin er større enn polyetylen. Metaller adsorbent til polyetylen vil derfor kunne gå i løsning når urinprøver oppbevares på slike flasker. Det er derfor nødvendig å ha rene flasker ved prøvetaking. (Med ren menes her frie for adsorberte metaller).

Ved Yrkeshygienisk institutt har det i de siste årene blitt benyttet Deconex-bad og etterskylling med destillert vann for rengjøring av urinflasker. Denne vaskeprosedyre, samt vasking med Deconex-EDTA er blitt undersøkt. Plastflasker vasket ved de forskjellige prosedyrene er tilsatt 2% HNO_3 . Det er tidligere nevnt at adsorbent metall til overflater går i løsning når $\text{pH} \leq 2$. Den 2%-ige HNO_3 -løsningen er analysert etter utvaskingen med elektrotermisk atomabsorpsjon under standard analysebetingelser. (HGA-76.P-E 300 AAS) (5)

Tabell 8: Analyseresultater for metaller i urinflasker.

Vaske- prosedyre	Flasketype	Cd		Cr		Ni		Pb	
		\bar{x}^a	s^b	\bar{x}	S	\bar{x}	S	\bar{x}	S
1 ^c	Nye ubrukte	0.25	0.10-0.76	1.5	1.1-2.2	1.9	0.8-5.3	6.8	4-11
1	Nye vaskede	0.99	0.08-5.7	0.4	0.2-2.1	6.1	3.0-8.3	0.26	0.1-0.9
1	Gamle brukte	0.41	0.11-2.0	1.2	1.0-1.8	4.6	1.5-9.3	1.0	0.4-2.2
2 ^d	Nye ubrukte	0.03	0.01-0.06	0.4	0.4	15	8-19	1	1-2

- a) \bar{x} : Midlere konsentrasjon i $\mu\text{g/l}$ av 10 syrebehandlede flasker.
 b) S: Spredningen, høyeste og laveste verdi.
 c) 1: Deconexbad med etterfølgende skylling med destillert vann.
 d) 2: Deconex-og EDTA-bad med etterfølgende skylling med destillert vann.

Ingen av de undersøkte vaskeprosedyrene fjerner adsorbent metall fra overflaten tilfredsstillende. Det er derfor nødvendig å syrevaske urinflasker som benyttes til oppsamling av urin for undersøkelse av eventuell metalleksponering.

Ved Yrkeshygienisk institutt blir urinflaskene vasket i 1 : 10 saltpetersyrebad minimum ett døgn. Etter syrebadet skylles de godt med destillert vann og tørres.

Tabell 9: Konservering av urinprøver og vaskeprosedyrer ved Yrkeshygieniske enheter i Norden 1977.

Institusjon	Konservering	Vaskeprosedyre
Yrkeshygienisk institutt, Oslo.	Ingen	Syrevask
Arbetarskyddsstyrelsen Stockholm	for Hg: sulfonaminsyre	Syrevask
Kliniken i Ørebro	Ingen	Syrevask
Yrkesmedicinska Kliniken i Lund	Ingen	Syrevask
Statens institut for Arbejdshygiejne København	Ingen	Benytter nye uvasket
institut för arbetshygien Helsingfors	Ingen	Deconexbad

Litteraturhenvisninger.

1. D.Littlejohn, G.S. Fell and J.M. Ottaway: Clin.Chem
22,1719 (1976).
2. P. Trujillo, P.Stein and E. Campbell : American Ind.
Hyg. Ass. J. May, 257 (1974).
3. J. Skare : Analyt 97, 184 (1972).
4. N. Gundersen og A. Røer: Rutineanalyse som utføres ved
Yrkeshygienisk institutt.
Atomabsorpsjon og kolorimetrisk metode HD. 695/76.
Yrkeshygienisk institutt.
5. HGA -76. Graphite Furnace, Operator's Manual.
Bodenseewerk, Perkin-Elmer & Co GMBH/Überlingen.