



连国军 曹建明◎主编

卫生理化 检验学

HEALTH PHYSICAL AND
CHEMICAL LABORATORY
SCIENCE



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社



浙江省重点教材建设项目

卫生理化检验学

主 编 连国军 曹建明
副主编 赵长容 马美萍



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

卫生理化检验学 / 连国军, 曹建明主编. — 杭州:
浙江大学出版社, 2014. 7

ISBN 978-7-308-13574-0

I. ①卫… II. ①连… ②曹… III. ①卫生检验—
高等学校—教材 IV. ①R115

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 164891 号

卫生理化检验学

主 编 连国军 曹建明

副主编 赵长容 马美萍

责任编辑 徐素君

封面设计 续设计

出版发行 浙江大学出版社

(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)

(网址: <http://www.zjupress.com>)

排 版 杭州中大图文设计有限公司

印 刷 浙江云广印业有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 16.75

字 数 420 千

版 印 次 2014 年 7 月第 1 版 2014 年 7 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-308-13574-0

定 价 35.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部联系方式: 0571-88925591; <http://zjdxcs.tmall.com>

目 录

第一篇 总 论

第一章 卫生理化检验概述	1
第一节 卫生理化检验的对象、任务和发展趋势	1
第二节 卫生理化检验的内容	3
第三节 常用的分析方法及标准分析方法的制定	4
第四节 分析工作质量保证和质量控制	9
第二章 样品分析前的常用处理方法	14
第一节 无机化处理	14
第二节 待测成分的分离、纯化方法	18

第二篇 食品理化检验

第一章 绪 论	24
第一节 食品检验的重要性	24
第二节 食品理化检验的内容	25
第三节 食品样品的采集和保存	26
第四节 食品样品的前处理	28
第五节 食品检验的常用方法	29
第二章 食品营养成分的测定	38
第一节 食品中水分的测定	38
第二节 食品中蛋白质的测定	40
第三节 食品中脂肪的测定	43
第四节 食品中碳水化合物的测定	45
第五节 食品中维生素的测定	50
第六节 食品中灰分及有关元素的测定	55
第三章 食品添加剂的测定	60
第一节 防腐剂	60
第二节 甜味剂	62
第三节 着色剂	64
第四节 抗氧化剂	68
第四章 食品中有害物质的测定	71

第一节	食品中农药残留量的测定	71
第二节	食品中黄曲霉毒素的测定	79
第三节	食品中亚硝胺的测定	84
第五章	几类食品的卫生检验	87
第一节	粮食熏蒸剂残留量的测定	87
第二节	食用植物油的卫生检验	90
第三节	调味品的卫生检验	94
第四节	水产品的卫生检验	95
第五节	肉、鱼、蛋制品中挥发性盐基氮的测定	97
第六节	酒的卫生检验	98
第六章	食品容器和包装材料的检验	102
第一节	样品的采集、处理和结果计算	102
第二节	食品用塑料制品的卫生检验	103
第三节	食品用橡胶制品的卫生检验	104
第七章	化学性食物中毒的快速检验	106
第一节	化学性食物中毒概述	106
第二节	水溶性毒物的快速检验	107
第三节	挥发性毒物的快速检验	108
第四节	不挥发性有机毒物的快速检验	110
第五节	金属毒物的快速检验	113
第六节	农药和杀鼠药的快速检验	115
第三篇	水质理化检验	
第一章	绪论	120
第一节	水质理化检验概述	120
第二节	水样的采集、保存	128
第三节	水样的预处理	133
第二章	感官性状指标测定	139
第一节	水温	139
第二节	臭和味	140
第三节	色度	141
第四节	浑浊度	142
第五节	电导和蒸发残渣	143
第三章	有机污染指标的测定	146
第一节	溶解氧	146
第二节	化学耗氧量	148
第三节	生化需氧量	152
第四节	酚	154

第五节	含氮化合物	156
第六节	其他有机污染物质	161
第四章	非金属无机物的测定	162
第一节	氰化物	162
第二节	余氯	166
第三节	硫化物	168
第四节	酸度和碱度	170
第五节	硬度	172
第六节	pH 值	173
第五章	金属化合物的测定	176
第一节	汞	176
第二节	镉	178
第三节	铅	179
第四节	铜	180
第五节	锌	181
第六节	铬	182
第七节	砷	183
第八节	其他金属化合物	185
第六章	水质快速检验	186
第一节	水质快速检验的意义和方法特点	186
第二节	一般化学性状的检验	186
第三节	无机毒物的检验	188
第四节	有机毒物	191
第四篇	空气理化检验	
第一章	绪 论	195
第一节	大气的结构和空气的组成	195
第二节	空气污染及危害	196
第三节	空气污染物的来源及分类	199
第四节	空气污染物浓度表示方法	200
第五节	空气中有害物质的卫生标准及检测方法	201
第六节	空气理化检验的基本内容和任务	204
第二章	空气样品的采集	205
第一节	概 述	205
第二节	采样方法	205
第三节	采样仪器	209
第四节	最小采气量和采样效率	212
第五节	采样点的选择	214

第六节 采样注意事项	216
第三章 气象条件的测定	218
第一节 概 述	218
第二节 气温的测定	218
第三节 气湿的测定	219
第四节 气流的测定	220
第五节 气压的测定	221
第四章 空气中颗粒物的测定	224
第一节 概 述	224
第二节 生产性粉尘的测定	224
第三节 大气中 PM ₁₀ 的测定	228
第四节 灰尘自然沉降量的测定	229
第五章 空气中无机气态污染物的测定	231
第一节 二氧化硫的测定	231
第二节 氮氧化物(NO _x)的测定	234
第三节 一氧化碳的测定	237
第四节 臭氧的测定	239
第六章 空气中有机污染物的测定	242
第一节 概述	242
第二节 甲醛的测定	242
第三节 苯、甲苯、二甲苯的测定	244
第四节 空气中其他有机污染物测定方法简介	245
第七章 空气中金属污染物的测定	247
第一节 汞的测定	247
第二节 铅的测定	248
第三节 锰的测定	250
第八章 空气中有毒物质快速测定方法简介	252
第一节 快速测定的目的及特点	252
第二节 快速测定方法的分类	252
第三节 快速测定方法的应用	253
第九章 大气污染物连续自动监测技术简介	256
第一节 概述	256
第二节 大气污染连续自动监测系统的组成	256
第三节 子站布设及监测项目	256
第四节 大气污染自动监测仪器	257
参考文献	259

第一篇 总 论

第一章 卫生理化检验概述

第一节 卫生理化检验的对象、任务和发展趋势

一、卫生理化检验的定义、对象和任务

预防医学的目的是研究各种环境因素对人体健康的影响和预防、治理的方法。卫生检验学则是预防医学各领域中了解这些环境因素(包括人体外环境和人体内环境)的一个重要研究手段,因而也是预防医学的一个重要学科。

卫生检验学由理化检验和微生物学检验组成,理化检验是其中的重要部分。通过这门课程的学习,可以初步阐明环境中各种物理、化学因素对人体的影响程度,为制定各类卫生标准和采取卫生措施提供科学依据,还可用来检验其检测的对象是否符合相应的卫生标准,及评价已采取卫生措施的效果。随着预防医学和卫生检验学的不断发展,卫生理化检验在确保水质、食品、空气等安全和保护人民健康中将发挥更加重要的作用。

1. 定义

卫生理化检验学是以物理、化学的基础理论与方法,特别是现代的仪器分析理论与技术手段,研究预防医学领域中与人体健康密切相关的物质的种类和数量的一门学科,是一门多学科交叉、应用性很强的学科。

卫生理化检验学的特点是:多学科交叉,它以现代分析化学为基础,不断吸取其他学科如化学、物理学、电子学、数学和生物学等的最新成就;应用性强,它是分析科学在预防医学领域的应用,与临床医学检验、基础医学检测检验关系密切。

2. 研究对象

预防医学领域中有关化学物质检测的理论、方法和技术为卫生理化检验学的研究对象。这些化学物质种类包括:存在于人体生命活动环境(空气、水、食品)中的有毒有害无机物、有机物;有害物质在生物体内代谢物、转化的产物;与中毒、致癌等疾病发生相关的人体内生物活性物质。

卫生理化检验学研究的方法和技术,主要为分析测试和样品处理中的方法和技术。它们涉及的内容广泛,包括从常量到微量分析;从宏观组分到微观结构分析;从静态到快速反应追踪分析;从破坏试样到无损分析;从离体到在体分析等。现代分析化学中的各种光谱分析法、电化学分析法、色谱法,以及各种分离技术等,在预防医学的检测领域发挥着重要作用。

大多数环境样品、生物样品及食品中的被测污染物与基体的状态不完全一致,对这样的样品必须经过预处理才能进行分析测定。样品预处理可以消除共存组分对测定的干扰、浓缩被测组分、提高测定的精密度和准确度,关系到卫生检验工作的成败。因此,样品预处理方法与技术的研究一直是分析检验工作者极其关注的问题。对各种样品预处理的新方法、新技术的探索、研究与完善已成为现代卫生理化检验的重要课题和发展方向之一。

3. 卫生理化检验的任务

(1) 污染物监测 在公众疾病预防与控制、劳动卫生环境保护等部门,这是重要的经常性工作,涉及广大群众和劳动者日常生活、工作的方方面面。即定期检测涉及公共卫生安全的空气、饮水、食品和其他接触生活介质中危害人体健康的有害污染物,找到其来源并予以消除,保护人民群众的身体健康。

(2) 污染现状和趋势监测 在对空气、水、食品的日常检测中,了解执行卫生标准情况、污染现状和发展趋势,对研究环境污染与人体健康关系是不可缺少的。在进行检验过程中还应特别注意发现新污染物,这对于防止污染物对人体造成不良影响极为重要。在应对突发性污染、中毒事件时更是如此。

(3) 污染源和污染程度监测 这是检验部门经常进行的工作。查找污染源并判定污染程度对污染的控制和治理都十分重要。污染来源不同,造成危害的性质也不同,所采取的治理措施也不同,因而找出污染源并确定危害性质是卫生理化检验工作中极其重要的任务之一。

二、卫生理化检验的发展趋势

随着科学技术的迅猛发展,特别是 21 世纪,卫生理化检验采用的各种分离、分析技术和方法在不断完善和更新。许多高灵敏度、高分辨率的分析仪器已经越来越多地应用于卫生理化检验中。目前,在保证检测结果的精密度和准确性的前提下,卫生理化检验正朝着微量、快速、自动化的方向发展。

近年来许多先进的仪器分析方法,如气相色谱法、高效液相色谱法、原子吸收光谱法、毛细管电泳法、紫外-可见分光光度法以及电化学方法等已经在卫生理化检验中得到了广泛的应用,在我国的卫生理化标准检测方法中,仪器分析方法所占的比例也越来越大。在样品的前处理方面采取了很多新颖的分离技术,如固相萃取、固相微萃取、加压容器萃取、超临界萃取以及微波消化等,较常规的前处理方法省时省事,分离效率高。

随着计算机技术的发展和普及,分析仪器自动化也是卫生理化检验的重要发展方向之一。自动化和智能化的分析仪器可以进行检验程序的设计、优化和控制、实验数据的采集和处理,使检验工作大大简化,并能处理大量的例行检验样品。例如,蛋白质自动分析等可以在线进行样品的消化和测定;在测定食品营养成分时,可以采用近红外自动测定仪,样品不需要进行预处理,直接进样,通过计算机系统即可迅速给出食品中蛋白质、氨基酸、脂肪、碳

水化合物、水分等成分的含量。装载了自动进样装置的大型分析仪器,可以昼夜自动完成检验任务。

仪器联用技术在解决卫生理化检验复杂体系的分离、分析中发挥了十分重要的作用。仪器联用技术是将两种或两种以上的分析仪器连接使用,以取长补短、充分发挥各自的优点。近年来,气相色谱-质谱(GC-MS)、液相色谱-质谱(LC-MS)、电感耦合等离子体发射光谱-质谱(ICP-MS)等多种仪器联用技术已经用于水质、食品、空气等样品中微量甚至痕量有机污染物以及多种有害元素等的同时检测,如样品中的多氯联苯、二噁英、氯丙醇、多环芳烃、丙烯酰胺等的检测。

近年来发展的微型全分析系统可以实现化学反应、分离检测的整体微型化、高通量和自动化。过去需在实验室中花费大量样品、试剂和长时间才能完成的分析检验,在几平方厘米的芯片上仅用微升或纳升级的样品和试剂,以很短的时间(数十或数分钟)即可完成大量的检测工作。目前,DNA 芯片技术已经用于转基因食品等样品的检测,以激光诱导荧光检测-毛细管电泳分离为核心的微流控芯片技术也将在卫生理化检验中逐步得到应用,将大大缩短分析时间和减少试剂用量,成为低消耗、低污染、低成本的绿色检验方法。

随着分析科学的发展,卫生理化检验方法与技术的不断改进,将为水质、食品、空气等样品的检测提供更加灵敏、快速、可靠的现代分离和分析技术。

第二节 卫生理化检验的内容

一、食品理化检验

食品卫生理化检验的内容包括食品的感官检查、食品中营养成分的检验、保健食品的检验、食品添加剂的检验、食品中有害物质的检验、食品容器和包装材料的检验、化学性食物中毒的快速鉴定、转基因食品的检验等,主要内容为食品中营养成分和食品中有害物质的检验。由于食品的种类繁多、来源广泛、形态各异,特别是食品中有害物质的种类及其存在方式千变万化、非常复杂,为其检验工作带来一定难度。因而,样品处理的方法和技术在食品卫生理化检验中显得尤为重要。

二、水质理化检验

城乡生活饮用水卫生检验是最基础也是最重要的水质理化检验工作。为全面满足人们对健康和生活其他方面的卫生要求,生活饮用水卫生标准对 35 项理化指标(包括水的感官性状、化学和细菌学指标)作了规定。根据具体情况,卫生监督部门对生活饮用水有全项检验;一般卫生项目检测[水温、pH 值、浑浊度、导电率、可溶性固体、溶解氧(DO)、化学耗氧量(COD)、生化需氧量(BOD)、亚硝酸盐、硝酸盐、氧化物、总硬度、磷酸盐],以及有害物质(酚、氰化物、汞、砷、六价铬)检验、监测等检测项目。

三、空气理化检验

空气理化检验包括城市空气质量检验、室内空气质量检验和车间空气(作业场所)质量

检验。在城市和室内空气质量检验中,主要检测二氧化硫、氮氧化物、一氧化碳、臭氧、氟化物、总有机碳、恶臭、粉尘等物质;在车间空气(作业场所)质量检验中,则根据卫生标准和生产过程中可能释放的污染物,确定具体的检测对象。国家对生产作业环境规定了各种无机物、有机物以及生产性粉尘等 120 种物质的最高容许浓度,规定了四乙基铅、汞、敌敌畏(DDVP)、松节油等 168 种物质的检验方法。

四、生物材料理化检验

人体或动物体内存在的有毒有害物质及其代谢物、转化产物的种类和数量,是研究各种疾病发生机理的关键之一,也是研究环境对人类健康影响的桥梁。这也包括与慢性中毒、致癌等疾病发生相关的人体内生物活性物质的检测。显然,生物材料的介质形态和其中的有害物质存在方式更为复杂,检验难度更大,这体现在样品处理技术和分析测试技术两个方面。因此,生物材料理化检验的方法和技术研究一直很活跃。

第三节 常用的分析方法及标准分析方法的制定

一、常用的分析方法

卫生理化检验中经常性的工作主要是进行定性和定量分析,几乎所有的化学分析和现代仪器分析方法都可以用于卫生理化检验,但是每种分析方法都有其各自优缺点。卫生理化检验选择分析方法的原则,首选应选用中华人民共和国国家标准,标准方法中如有两个以上检验方法时,可根据具备的条件选择使用,以第一种方法为仲裁方法;未指明第一法的标准方法,与其他方法属并列关系。根据实验室的条件,尽量采用灵敏度高、选择性好、准确可靠、分析时间短、经济实用、适用范围广的分析方法。

(一)化学分析

化学分析包括定性分析和定量分析两部分。对于卫生理化检验,由于大多数样品的来源及主要待测成分是已知的,一般定性分析做的较少,只在需要的情况下才做定性分析。因此,最经常的工作是做定量分析,主要包括质量分析法和容量分析法。例如:食品中水分、灰分、脂肪、纤维素等成分的测定采用质量分析法;容量分析法包括酸碱滴定法、氧化还原滴定法、络合滴定法和沉淀滴定法,其中前两种方法最常用。水的硬度、化学需氧量、食品中蛋白质、酸价、过氧化值等的测定均采用滴定分析法。

化学分析法是卫生理化检验的基础,许多样品的预处理和检测都是采用化学方法,而且仪器分析的原理大多数也是建立在化学分析的基础上的。因此,化学分析法仍然是卫生理化检验中最基本、最重要的分析方法。

(二)仪器分析

仪器分析法是以物质的物理或物理化学性质为基础,主要是利用物质的光学、电学和化学等性质来测定物质的含量,包括物理分析法和物理化学分析法。水质、食品、空气等样品

中微量成分或低浓度的有毒有害物质的分析常采用仪器分析法进行检测。仪器分析方法一般灵敏、快速、准确,但所用仪器设备较昂贵,分析成本较高。目前,常采用的仪器分析方法有光谱分析、电化学分析、色谱分析,一些采用联用技术的仪器和方法也日益普及,如气相色谱-质谱、液相色谱-质谱、等离子发射光谱-质谱联用法等。这些方法的原理在《仪器分析》或相关课程中已经进行了详细讲解,下面仅就光谱分析、电化学分析、色谱分析做一概述。

1. 光谱分析

光谱分析(spectrum analysis)研究电磁辐射和物质相互作用,即化学组分内部量子化的特定能级间的跃迁与组分含量的关系,测量由其产生的发射、吸收或散射在一个或多个波长处的电磁辐射强度的方法称为光谱法(spectrometry)。

光谱分析主要包括原子光谱分析和分子光谱分析两部分。

(1)原子光谱分析法 利用原子所发射的辐射或辐射与原子的相互作用而对元素进行测定的光谱化学分析法,是由原子外层或内层电子能级的变化产生的,它的表现形式为线光谱。属于这类分析方法的有原子发射光谱法(AES)、原子吸收光谱法(AAS)、原子荧光光谱法(AFS)以及 X 射线荧光光谱法(XFS)等。

(2)分子光谱分析法 利用物质分子的内部能级(电子能级、振动能级和转动能级)与电磁波作用产生的吸收、发射来对该物质进行测定的光谱化学分析法。属于这类分析方法的有紫外-可见分光光度法、红外光谱法、Raman 散射、分子荧光分析法、核磁共振波谱法等。

2. 电化学分析

电化学分析是通过测量组成的电化学电池中待测物溶液所产生的一些电特性而进行的分析。方法具有如下特点:分析检测限低;可进行元素形态分析,如 Ce(III)及 Ce(IV)分析;产生电信号,可直接测定,仪器简单、便宜;多数情况可以得到化合物的活度而不只是浓度(如在生理学研究中, Ca^{2+} 或 K^{+} 的活度大小比其浓度大小更有意义);可得到许多有用的信息,如界面电荷转移的化学计量学和速率、传质速率、吸附或化学吸附特性、化学反应的速率常数和平衡常数测定等。

按测量参数可将电化学分析分为电位分析法、伏安分析法、电导法、电重量法、库仑法等,以电位分析法和伏安分析法最为常用。

(1)电位分析法 通过测量电极电位(实际测量的是电池的电动势)、根据 Nernst 方程来确定电极活性物质活度(或浓度)的一类分析方法,包括直接电位法,如溶液 pH 值的测定;电位滴定法,用于滴定生物碱等药物、表面活性剂以及一些难于用一般方法测定的无机离子等。

(2)伏安分析法 以测定电解过程中所得到的电流-电压曲线为基础的电化学分析方法。其中用滴汞电极为工作电极的伏安分析法称为极谱法,常见的有单扫描极谱法、脉冲极谱法,可以采用直接比较法、标准曲线法和标准加入法对未知样进行定量。

3. 色谱分析

色谱法又称层析法。色谱法早在 1903 年由俄国植物学家茨维特分离植物色素时采用。他在研究植物叶的色素成分时,将植物叶子的萃取物倒入填有碳酸钙的直立玻璃管内,然后加入石油醚使其自由流下,结果色素中各组分互相分离形成各种不同颜色的谱带。这种方法因此得名为色谱法。以后此法逐渐应用于无色物质的分离,“色谱”两字虽已失去原来的含义,但仍被人们沿用至今。

在色谱法中,将填入玻璃管或不锈钢管内静止不动的一相(固体或液体)称为固定相;自上而下运动的一相(一般是气体或液体)称为流动相;装有固定相的管子(玻璃管或不锈钢管)称为色谱柱。当流动相中样品混合物经过固定相时,就会与固定相发生作用,由于各组分在性质和结构上的差异,与固定相相互作用的类型、强弱也有差异,因此在同一推动力的作用下,不同组分在固定相滞留时间长短不同,从而按先后不同的次序从固定相中流出。色谱法根据其分离原理可分为:吸附色谱、分配色谱、离子交换色谱与排阻色谱等。又可根据两相状态或分离方法分为:纸色谱法、薄层色谱法、柱色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法等,以气相色谱法和高效液相色谱法应用最为广泛。色谱法是目前应用最广泛、最灵敏的分析方法之一,它的检测限可达到 10^{-15} g,相当于 10^{-12} mol/L 量级。

(1)气相色谱法 以气体为流动相的色谱称为气相色谱(gas chromatography, GC)。1952年 Martin 和 James 创立了气相色谱法,1954年 Ray 采用了热导池检测器,并对仪器作了重大改进,出现了商品气相色谱仪。1956年, Van Deemter 等提出了气相色谱的速率理论为气相色谱法奠定了理论基础。1957年, Golay 发明了毛细管色谱柱,提高了分离效率和分辨率。其后 Mewilliam 等发明了氢火焰离子化检测器、Lovelack 等研制出了氦离子化检测器和电子捕获检测器,进一步提高了检测的选择性和灵敏度。

气相色谱固定相大致分为液体固定相和固体固定相两类。液体固定相是将固定液均匀地涂布在载体上构成,通过分子间作用力(包括静电力、诱导力、色散力和氢键力等)决定组分在固定液中的溶解度,从而决定了组分在气液两相中的分配系数和保留时间。气相色谱固定液通常按其极性分类,主要有烃类:脂肪烃、芳香烃及其聚合物,如阿皮松、聚苯乙烯等;聚硅氧烷类,如甲基、乙基、苯基甲基、氰基甲基聚硅氧烷等;聚二醇及聚烷基氧化物,如聚乙二醇;酯及聚酯类,如邻苯二甲酸二壬酯。固体固定相一般都是具有吸附活性的固体吸附剂,主要有非极性的活性炭和石墨化颗粒、弱极性的活性氧化铝、强极性的硅胶等。

气相色谱常用检测器有火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID)、电子捕获检测器(electron capture detector, ECD)、火焰光度检测器(flame photometric detector, FPD)、氮磷检测器(nitrogen phosphorus detector, NPD)。火焰离子化检测器又称氢焰检测器,是目前应用最广泛的检测器,对大多数有机物有响应,灵敏度高,能检测 ng/ml 级痕量有机物。并且响应速度快,稳定性好,线性范围广。电子捕获检测器是一种选择性强、灵敏度高的检测器,它只对含有强电负性元素的物质即亲电子性化合物产生响应,电负性越强响应信号越大。适于分析含有卤素、硫、磷、氮、氧等元素的物质,灵敏度很高,检测量可达 10^{-14} g/ml。其缺点是线性范围较窄($10^2 \sim 10^4$)。火焰光度检测器是对含硫、磷的有机物有高度选择性和高灵敏度的检测器,又称硫磷检测器。主要对大气、水和食品中的含硫、磷有机污染物分析,其检测量可达 10^{-12} g/ml。氮磷检测器专用于含氮和磷的有机物分析。

影响混合物中各组分的分离效果的操作条件有载气和流速的选择、柱温的选择、固定液配比的选择、载体粒度和分散度的选择、柱长和柱内径的选择、进样速度和进样量、汽化温度等选择,人们对此进行了大量的研究,积累了丰富的理论和实践经验,并建立了完善的专家系统。针对分析对象,参考专家系统,初步确定分离操作条件,在此基础上一般还要稍作调整,才能获得满意的气相色谱分离操作条件。

(2)液相色谱法 液体为流动相的色谱称液相色谱(liquid chromatography, LC)。20世纪60年代末期, Giddings 等人将气相色谱实践中发展起来的色谱理论用于液相色谱领

域,为经典液相色谱的现代化奠定了理论基础。1967年,Horvath等人研制了第一台高效液相色谱仪。随后,新型高效的固定相、高压输送泵、梯度洗脱技术和各种高灵敏度的检测器相继发明,高效液相色谱法得到迅速发展。此种方法在其发展过程中也被称作高速液相色谱法(high speed liquid chromatography)、高压液相色谱法(high pressure liquid chromatography)或高分辨液相色谱法(high resolution liquid chromatography)等。

与气相色谱一样,液相色谱固定相也分为液体固定相和固体固定相两类。虽然大部分的有机液体都可以作为液体固定相,但常用的固定液只有极性不同的几种,如极性的 β 、 β' -氧二丙腈、聚乙二醇、聚酰胺、非极性的十八烷和角鲨烷等。常见的固体固定相有吸附剂、离子交换树脂、凝胶。吸附剂分为极性吸附剂和非极性吸附剂,前者如硅胶、氧化铝、氧化镁、分子筛等,后者如活性炭等;离子交换树脂主要分为无机离子交换剂和有机离子交换剂两大类;凝胶按其性质分为软性凝胶、半刚性凝胶、刚性凝胶。

液相色谱的检测器有紫外吸收检测器(ultraviolet detector, UV)、光电二极管阵列检测器(process diode array detector, PDA)、荧光检测器(fluorescence detector, FD)、示差折光检测器(differential refractive index detector, RI)、电化学检测器(electrochemical detector)、化学发光检测器(chemiluminescence detector)。紫外吸收检测器灵敏度较高,线性范围宽,对流速和温度的变化不敏感,适用于梯度洗脱,对强吸收物质检测限可达1ng,检测后不破坏样品;可用于制备,并能与任何检测器串联使用;在各类检测器中,其使用率占70%左右。紫外检测器有单波长和可调波长两类,可调波长紫外检测器可按照被测试样的紫外吸收特征任意选择工作波长,提高了仪器的选择性和信噪比,适用于梯度洗脱,但灵敏度不如固定波长紫外检测器。光电二极管阵列检测器也称快速扫描紫外可见光检测器,它采用光电二极管阵列作为检测元件,可得到三维色谱光谱图。其中最近发展起来的电荷耦合阵列检测器(charge-coupled device array detector)简称CCD检测器,具有光谱响应范围宽、灵敏度高及线性范围宽等优异性能,具有其他类型检测器无法比拟的优点。荧光检测器是一种高灵敏度、有选择性的检测器,可检测能产生荧光的化合物,某些不发荧光的物质可通过化学衍生技术生成荧光衍生物,再进行荧光检测。其最小检测浓度可达0.1ng/ml,适用于痕量分析,可用于梯度洗脱。一般情况下荧光检测器的灵敏度比紫外检测器高1~3个数量级,但其线性范围不如紫外检测器宽。示差折光检测器是一种浓度型通用检测器,某些不能用选择性检测器检测的组分,如高分子化合物、糖类、脂肪烷烃等,没有紫外吸收、不产生荧光、又没有电活性,可用示差折光检测器,但灵敏度比紫外检测器低得多,该检测器对温度和压力的变化非常敏感,不能用于梯度洗脱。电化学检测器主要有安培、极谱、库仑、电位、电导等检测器,属选择性检测器,可检测具有电活性的化合物。化学发光检测器是一种快速灵敏的新型检测器,当分离组分从色谱柱中洗脱出来即与适当的化学发光试剂混合,引起化学反应,导致发光物质产生辐射,其光强度与该物质的浓度成正比。这种检测器的最小检测量可达pg级,灵敏度比荧光检测器高20倍。

高效液相色谱法与气相色谱法相比,具有应用范围广的优点。HPLC可用于高沸点、相对分子量大、热稳定性差的有机化合物以及各种离子的分离分析。它不仅可利用被分离组分极性的差别、分子尺寸的差别、离子交换能力的差别以及生物分子间亲和力的差别进行分离,还可用多种溶剂作流动相,通过改变流动相组成来改善分离效果,因此分离能力比气相色谱法更大。此外,HPLC的馏分容易收集,十分有利于制备。影响高效液相色谱分离

效果的因素有流动相的流速、种类和配比、固定相、色谱柱的长度和内径、柱温等,在检测过程中应注意选择合适的色谱条件,以获得满意的检测结果。

二、标准分析方法的制定

随着预防医学的迅速发展,对于一系列前所未有复杂的微量、痕量污染物分离、分析问题,传统的检测技术需要不断革新才能逐步满足这些高要求,因此研究新的检测方法是卫生检验学的前沿领域之一。新方法的建立对满足卫生理化检验的工作需要、提高检验工作的水平,促进我国标准分析方法的发展具有重要意义。

(一)分析方法的建立

在查阅国内外有关文献的基础上,了解待测物的理化性质、原有分析方法的原理和优缺点,提出新的分析方法或改进原方法。通常应该对影响分析方法精密性、灵敏度、准确度和方法检出限的主要因素以及样品的前处理条件进行优化。选用优化的分析测试条件和样品前处理步骤,建立新的分析方法,并对所建立方法的性能指标进行评价。

1. 检测条件的优化

在新的分析方法建立过程中,可以采用单因素条件试验或正交试验,确定各种影响因素的最佳条件。

不同的分析方法所需要优化的条件不同,分光光度法需优化的条件有合适的显色反应、显色缓冲液种类和 pH 值、显色剂用量、显色温度和时间等;气相色谱法在进行测定条件优化时,首先应根据待测组分的性质,对色谱柱和检测器的种类进行选择,然后进行柱温、气化室温度、载气种类和流速、可能用到的氢气和空气的流速等条件进行优化;液相色谱法在进行测定条件优化时,首先需要选择的也是色谱柱和检测器的种类,之后再对流动相的组成、酸度、流速以及柱温等条件进行优化,同时也必须考察在所选择的最佳色谱条件下,实际样品中待测组分与样品中干扰组分的分离情况。

2. 校准曲线的绘制

校准曲线是用于描述待测物质的浓度或含量与测量仪器响应值之间定量关系的曲线。在进行测定时,所配制的标准系列、待测物的浓度或含量应在方法的线性范围之内。

校准曲线包括标准曲线和工作曲线,两者的区别在于标准溶液的处理步骤不同。在绘制工作曲线时,标准溶液的分析步骤和样品分析步骤完全相同;而绘制标准曲线时,标准溶液的分析步骤中省略了样品的前处理步骤。

3. 样品前处理条件的优化

样品的前处理是建立新分析方法的重要一环,是决定分析成败的关键之一。样品前处理的目的是使样品能适合分析方法的要求。通常样品的前处理包括样品的消化或提取、分离和净化等步骤。

对于金属元素或无机物的检测,可以采用干灰化或湿消化处理样品,并对其条件进行优化;对于有机物的检测,可以根据待测物的性质选择合适的提取方法并进行条件优化,如采用液-液萃取、超声波萃取、振摇萃取、索氏提取器提取等。样品的分离和净化,可以选择并进行条件优化的方法有溶剂提取法、挥发法和蒸馏法、液相色层分离法、固相萃取法等。

4. 干扰试验

根据样品中可能存在的干扰成分进行试验,通过干扰试验可以确定干扰组分的允许浓度。通常在标准溶液中加入一定量的干扰成分,以测定值变化 $\pm 10\%$ 作为是否产生干扰的判定依据。如果存在干扰,则应该采取适当的措施加以消除。

5. 实际样品的测定

采用所建立的新方法检测不同类型、不同基体的实际样品,以说明方法的适用性。

6. 方法性能指标的评价

对于所建立的分析方法应给出其线性范围、检测限、精密度、回收率、方法对照等方法学指标的评价。

(二) 标准分析方法的研制程序

对于目前国家尚未制定标准方法的检验项目,应尽可能采用或借鉴国际通用的检验方法,也可以在查阅国内外有关文献资料的基础上建立新的分析方法。所建立的新方法在实践中不断改进完善后,可以申报为国家、部门、地方或行业的标准分析方法。一般国家标准分析方法研制的主要程序包括:①立项:在调查和查阅有关文献资料的基础上,提出制定的标准项目建议书。②起草:通过上述新方法研制的试验程序,整理、编制分析方法的标准草案和标准编制说明,形成标准征求意见稿,并由三个以上的检验单位对所提出的方法进行验证。③征求意见:由标准化主管部门广泛征求意见,标准起草小组根据反馈的意见,修改标准征求意见稿和标准编制说明,形成标准送审稿。④审查:由标准化主管部门组织会审或函审。根据审查意见,修改标准送审稿和标准编制说明,形成标准报批稿,并整理“意见汇总”。最后将完整的研制报告和意见汇总表等材料上报标准化主管部门,待批准。

第四节 分析工作质量保证和质量控制

检测数据在卫生政策和法规的制定及执行过程起着极为重要的作用。检测工作贯穿于整个卫生监测过程之中,检测数据的质量也必然受到各种因素的影响和制约。检测质量保证应该是科学管理水平和检测技能的综合体现,检测数据的失真,可使评价结果失误,说明科学管理过程中的失控,最终将导致整个监测工作的失败。因此,必须对卫生理化检验实施质量保证工作,其最终目的在于提供可满足监测目的且合乎质量要求的数据,将由于仪器故障及各种干扰影响导致数据的损失降到最低限度,确保系统提供的数据具有准确性、精密性、代表性、可比性和完整性。

一、分析工作质量保证

在卫生理化检验领域,质量保证是指为保证检测数据的精密、准确、有代表性和完备性而采取的活动的总和。质量保证既是技术措施又是行政手段。

分析工作质量保证的目的是获得高度可信的分析结果,它包括从样品的采集、保存、运输、分析测试直至报告书的编制和审核、归档等全部过程,实验室质量保证的主要内容包括:

(1)健全的组织机构,明确的岗位职责,对检测工作计划的制订、条件保证和运行实施。

(2)对样品的质量保证。

(3)标准分析方法的执行,详细的方法注解或实施细则的编制,使用非标准分析方法的验证、鉴定与审批。对分析方法的误差预测与控制,可保证分析结果的质量。

(4)检测人员的培训和考核。由于卫生检验样品的复杂性和多样性,检测的指标涉及多种技术、检验人员的技术熟练程度和知识面都会影响分析结果的不确定度。为此,对检测人员的检测知识、技能、特种仪器设备的操作能力进行定期的培训、考核,并执行持证上岗的制度。

(5)检测仪器设备的计量检定与维护。对分析仪器以及与检测数据直接有关的设备,必须建立定期的检定和经常的维护制度,并有详细的运行记录,确保仪器、设备在分析过程中处正常运行状态。

(6)基准物质与标准溶液的管理。基准物质和标准溶液是保证分析结果能通过连续的比较链溯源到国家计量标准的依据,基准物质的使用与管理应视同于对标准器的管理。标准溶液的配制应严格按照国家标准(GB 602,601)进行标化和复核,并有编号和记录。

(7)分析工作质量控制。实验室分析质量控制的主要内容是通过分析的精密度的预测与控制、误差的估计与校正、方法检测限以及结果总不确定度的确定,以保证分析结果的可靠性和可比性。

(8)检测报告书的质量控制与管理。检测报告书是检测机构的产品,报告书的质量由其外观形式和数据结论两方面组成,它是检测机构全面科学管理和技能水平的反映。因此对原始记录的规范,合理的数据修约与统计,法定计量单位的正确使用,严格的报告书编制、审核、签发、归档以及对报告的申诉、质疑的规定,是检测机构质量体系有效运行的体现。

二、分析工作质量控制

质量控制(quality control, QC)是“为保持某一产品、过程或服务满足规定的质量要求所采取的作业技术和活动”。分析工作质量控制的目的是把检验结果的误差控制在允许的限度内,使分析数据合理、可靠,在给定的置信度内达到所要求的质量。

分析工作质量控制包括空白试验、灵敏度、精密度和准确度、校准曲线、检出限、测定限等的控制和质量控制图的使用。

1. 空白试验

空白试验是指除用蒸馏水代替样品外,其他所加试剂和操作步骤均与样品测定完全相同的操作过程。空白试验的响应值叫空白试验值,简称空白值。

一般分析结果等于样品测定值扣除空白值。在卫生样品分析中,由于污染物测定值很小,常与空白值处于同一数量级,所以空白值的大小及其变异性将严重影响分析结果的精密度以及分析方法的最低检出限。

影响空白值大小及变异性的因素有:①试剂中的杂质;②实验用水中的杂质;③有色试剂的底色;④玻璃器皿的玷污;⑤测定仪器的噪声或分析方法的精密度;⑥实验环境的污染;⑦操作人员的水平等。对这些因素进行严格控制,并进行严密的监测,就可将空白值保持在分析方法规定的水平。测定或监测空白值的方法:每天测定两个平行样,连测5天,将此10次测定结果求出均值和标准偏差。