

21世纪高等医学院校教材



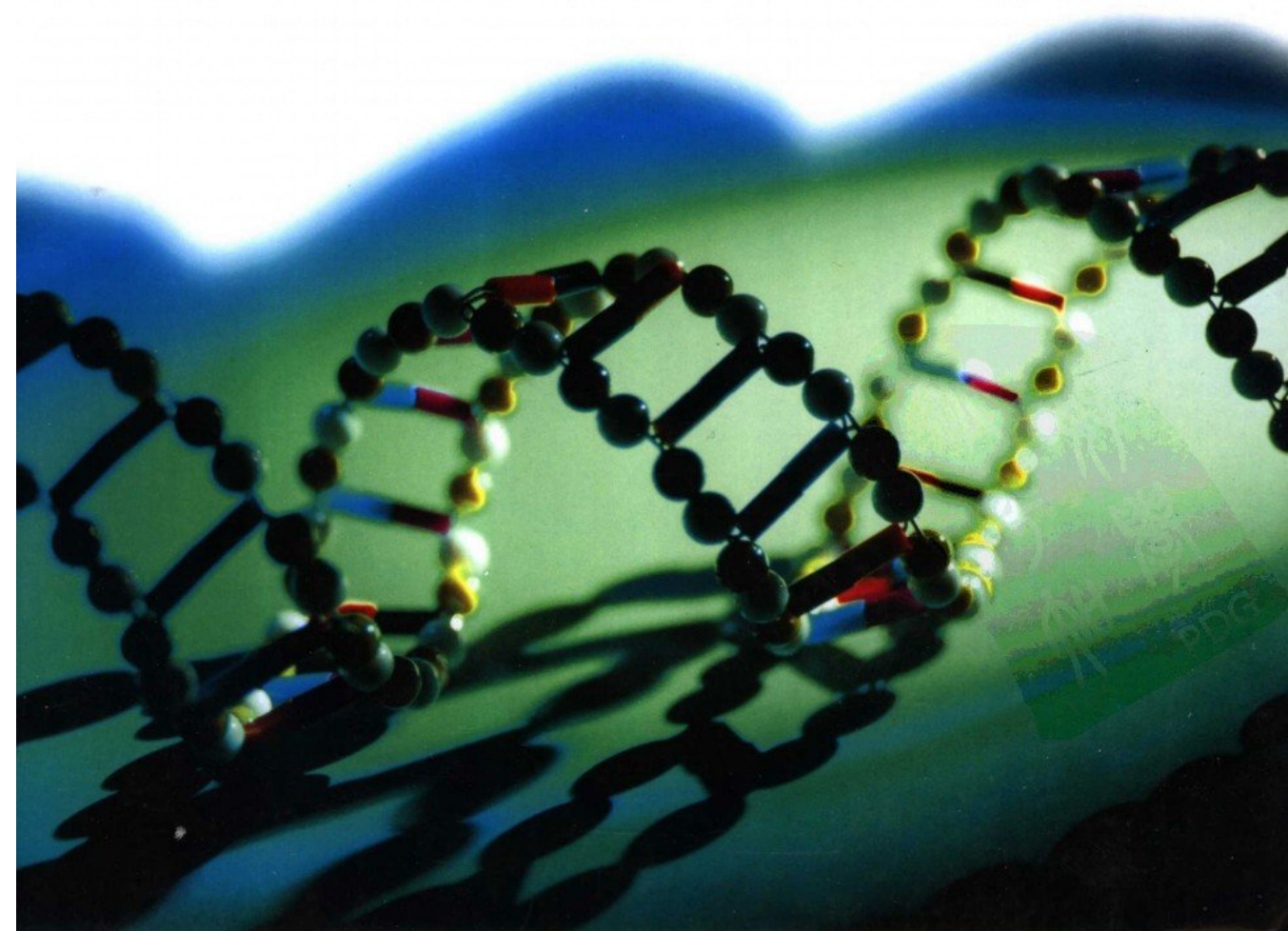
卫生检验基础

Fundation of Health Laboratory Technology

主编 雷毅雄 副主编 陈小薇 陈骁熠

广东省出版集团 广东科技出版社

(供预防、临床、检验类专业用)





ISBN 978-7-5359-4272-2



9 787535 942722 >

责任编辑 郭飞 封面设计 林少娟

定价: 30.00元

21 世纪高等医学院校教材
(供预防、临床、检验类专业用)

卫生检验基础

Fundation of Health Laboratory Technology

主 编 雷毅雄
副主编 陈小薇 陈骁熠

广东省出版集团

广东科技出版社

· 广 州 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

卫生检验基础/雷毅雄主编. —广州: 广东科技出版社, 2007. 2

ISBN 978-7-5359-4272-2

I. 卫… II. 雷… III. 卫生检验 IV. R115

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 010450 号

出版发行: 广东科技出版社

(广州市环市东路水荫路 11 号 邮码: 510075)

E - mail: gdlkjzbb@21cn.com

http: //www.gdstp.com.cn

经 销: 广东新华发行集团股份有限公司

排 版: 广东科电有限公司

印 刷: 佛山市浩文彩色印刷有限公司

(南海区狮山科技工业园A区 邮码: 528225)

规 格: 787mm×1 092mm 1/16 印张 13 字数 260 千

版 次: 2007 年 2 月第 1 版

2007 年 2 月第 1 次印刷

印 数: 1~3 000 册

定 价: 30.00 元

如发现因印装质量问题影响阅读, 请与承印厂联系调换。

前 言

卫生检验是预防医学中的一门重要学科，也是高等医学院校检验类专业的主干课程之一，它为环境卫生、劳动卫生与职业病、食品营养与卫生、儿童少年卫生、流行病学，以及检验类学科提供了重要的相关检验方法和手段。通过卫生检验，我们可以了解到待测样品的成分和数量，可以知道在样品中存在何种外来化学物，也可以分析微生物的污染情况，更重要的是可以结合人体生物性材料的检测结果，分析和阐明相关公共卫生学意义。

随着社会发展和科技进步，卫生检验无论在内容上还是在检测方法上都有很大的进展。为了使卫生检验教学与时俱进，我们在自编讲义（1993年第一版、1998年第二版、2006年第三版）的基础上，参考了多本国内外相关教材和专著，并结合本学科内容特点和发展方向，编写出这本《卫生检验基础》高等医学院校教学用书。全书包括卫生理化检验和卫生微生物检验，共7章，侧重于卫生理化检验，重点体现先进性和实用性，尤其注重各种卫生检验结果的解释和公共卫生学意义的阐明，使学生在有限的时间内既能掌握基本理论知识，又能掌握最新、最实用的专业知识。本书作为教学用书，特别适用于高等医学院校检验类专业的师生，也为广大医疗卫生工作者提供一本切合实际的参考书。

本书在编写过程中，得到了广州医学院领导的大力支持，特别是得到了多位专家教授的指导和热情帮助。此外，广东科技出版社为本书的出版提供了良好的条件。在此，一并表示衷心感谢！同时，也向本书有关参考文献的作者们致谢！由于时间仓促和水平所限，书中错误和疏漏之处在所难免，恳请同行专家和广大读者批评指正。

编 者

2007年2月于广州

目 录

绪论	1
第一章 卫生理化检验概述	3
第一节 样品采集	3
一、样品采集的原则	3
二、样品采集的过程和注意事项	3
第二节 样品分析前的常用处理方法	4
一、有机质破坏法	5
二、提取法	8
三、挥发法	10
四、蒸馏法	10
五、顶空法	11
六、吸附法	11
七、沉淀法	12
八、透析法	12
九、离子交换法	12
第三节 卫生理化检验常用分析方法	13
一、感官检查法	14
二、物理检查法	14
三、化学分析法	14
四、物理化学分析法	16
第二章 检验质量控制	17
第一节 概述	17
一、检验质量控制的意义	17
二、检验质量控制的内容	17
第二节 样品质量控制	18
一、密码质控样品	18
二、现场-实验室质控样	18
第三节 实验室内分析质量控制	19
一、适宜分析方法的选定	19
二、精密度与准确度的测量	20
三、经常性分析的质量控制	21
第四节 实验室间分析质量控制	31
第三章 水质检验	32

第一节 水质检验概述	32
一、水的种类	32
二、水污染的来源和主要污染物	33
三、水的其他健康问题	34
四、水环境卫生标准	34
第二节 水样的采集与保存	35
一、水样的采集	35
二、水样的保存	37
第三节 水质的卫生检验	38
一、物理性质指标	38
二、化学性状指标	41
第四章 空气检验	62
第一节 空气检验概述	62
一、空气的物理性状	62
二、空气污染物的来源	63
三、空气污染物的种类	63
四、空气环境卫生标准	64
第二节 空气样品的采集	64
一、空气中有害物质的存在状态	65
二、空气样品的采集方法和采样仪器	65
三、采样体积与浓度的表示方法	74
第三节 粉尘	75
一、概述	75
二、粉尘浓度测定	76
三、粉尘分散度测定	77
四、粉尘中游离二氧化硅测定	80
第四节 空气中有害物质检验	81
一、二氧化硫	81
二、氮氧化物	82
三、硫化氢	83
四、氨	85
五、铅	86
六、汞	86
七、苯、甲苯、二甲苯	88
第五节 空气中有害物质的快速检验	90
一、空气快速检验常用方法	90
二、几种有害物质的快速检验	94
第五章 食品检验	96

第一节 食品检验概述	96
一、食品样品的采集	96
二、食品样品的制备和保存	98
第二节 食品营养成分的检验	99
一、水分	99
二、灰分	101
三、脂肪	102
四、还原糖和蔗糖	103
五、蛋白质	107
六、无机盐	108
七、维生素	111
第三节 食品添加剂的检验	115
一、概述	115
二、人工合成色素	115
三、防腐剂(苯甲酸和山梨酸)	118
四、甜味剂(糖精钠)	120
第四节 食品中有害成分的检验	121
一、总砷	122
二、铅	125
三、有机磷农药残留量	126
第五节 几类食品卫生指标的检验	128
一、酒类常见卫生指标的分析	128
二、食用植物油常见卫生指标的分析	133
第六节 食品掺伪检验	138
一、概述	138
二、几种食品中掺伪成分的鉴定	140
第七节 食品容器、食具与包装材料的检验	144
一、样品的采集和浸泡	144
二、常用检验方法	145
第八节 常见化学性食物中毒的快速鉴定	147
一、概述	147
二、几种化学性毒物的鉴定	148
第六章 其他样品的检验	155
第一节 土壤与底质	155
一、概述	155
二、有害物质	159
第二节 化妆品	161
一、概述	161

二、化妆品样品的采集保存和处理	162
三、有害物质	162
第三节 生物样品	163
一、概述	163
二、生物样品的采集和保存	164
三、生物样品的测定	168
第七章 卫生微生物检验	170
第一节 卫生微生物检验概述	170
一、环境微生物的类群及污染特点	170
二、环境微生物污染的来源与危害	171
第二节 微生物检验样品的采集和送检	175
一、水样的采集方法	175
二、空气微生物的采集方法	176
三、土壤样品的采集方法	178
四、食品样品的采集方法	179
五、化妆品及药品的采集方法	179
第三节 卫生指示微生物的检验	180
一、菌落总数的测定	180
二、大肠菌群的测定	181
三、沙门氏菌的检测	183
四、金黄色葡萄球菌的检测	184
附录 1 地表水环境质量标准	185
附录 2 生活饮用水水质卫生规范	186
附录 3 环境空气质量标准	191
附录 4 居住区大气中有害物质的最高容许浓度	192
附录 5 车间空气中有毒物质的最高容许浓度	193
附录 6 土壤环境质量标准	196
参考文献	197

绪 论

卫生检验技术是运用物理、化学、生物的基础理论和方法,检测和分析与人类生产环境、生活质量、健康因素密切相关的物质种类和数量的一门技术性学科。通过卫生检验,我们可以阐明外界环境中各种物理、化学、生物因素与人体健康的关系及对人体健康影响的程度,为制定预防疾病的措施和卫生标准提供科学依据,并可运用检验的结果来判断检验对象与卫生标准符合的程度,评价卫生措施的效果。因此卫生检验属于预防医学的范畴,也为医学检验类学科提供重要的相关检验方法和手段。

卫生检验的概念、理论、方法和技能来源于人类与疾病斗争的经验总结,并在实践中不断充实、完善和发展。古人将光亮的银簪插入食物中观察是否变黑,以试验其中是否含毒,这可看成是早期的“卫生检验方法”。人类社会发展到19世纪,出现了资本主义工业革命,生产力得到了迅速发展,一方面带来了科学技术发展和经济繁荣,另一方面也造成了工业污染和生态环境破坏,导致疾病流行。此时,许多卫生学家开始用实验的方法,研究阐明空气、水、土壤、住宅等生活环境因素对人体健康和疾病的影响问题,从而诞生了实验卫生学,随着分析化学、微生物学实验技术等其他学科的发展及其理论与方法的引用,逐步发展成为较系统的卫生检验学科。

为了强化卫生管理,健全卫生监督体系,保障人民群众健康,我国先后颁布了一系列卫生法律、条例和管理办法及国家卫生标准,卫生检验是这一卫生法律体系的重要组成部分。1987年国务院发布实施了《公共场所卫生管理条例》和《中华人民共和国尘肺病防治条例》,1991年卫生部发布了《公共场所卫生管理条例实施细则》,1995年又颁布了《中华人民共和国食品卫生法》和《中华人民共和国劳动法》等。这些卫生法律和法规,以国家强制性的法律条文来保障公民的生命健康权,对一切危害公共卫生和人体健康的行为有了明确的裁量标准,并能依法使其受到惩处。作为卫生法律法规的重要组成部分,国家和卫生行政部门还发布实施了一系列的卫生标准和标准检验方法。如《食品卫生标准》,《食品卫生标准检验方法(理化部分)》、《生活饮用水卫生标准》、《生活饮用水标准检验方法》、《车间空气监测检验方法》等。卫生标准具有法律约束性,它是对管理对象执行卫生法律法规状况进行卫生学评价的技术依据,也是对不符合卫生标准的事件判定其违法程度和承担何种法律责任的技术依据。在卫生行政执法活动中,要保证监测结果准确、可靠和可比,必须要有规范和标准化的监测方法,即标准检验方法,以约束卫生执法活动。可见,实行卫生标准监测检验方法,是实施卫生监督和卫生监测的前提和基础。

卫生检验包括卫生理化检验和卫生微生物检验。根据研究领域的不同,又可将它分为环境卫生检验、劳动卫生检验、营养和食品卫生检验等分支;根据样品的形态分为水质检验、空气检验、食品检验、土壤检验、化妆品检验、生物检材的检验等。环境卫生理化检验研究的是人们在生活空间中,直接或间接影响人类生存和健康的各种物理、化

学因素的状态、种类和含量；劳动卫生理化检验主要研究劳动环境中化学物质的种类和含量及对人体的影响，研究劳动环境中的有毒有害物质进入人体后的代谢过程、代谢产物及引起生化作用强度的测定方法，为识别、评价、控制职业性有害因素和职业病防治提供科学依据；营养与食品卫生理化检验的主要任务是研究食品中营养物质及影响卫生质量的物质的种类和数量，为人们食用富含营养、安全卫生的食品提供保证；卫生微生物学检验是利用检验手段对外界环境（它包括空气、土壤、水、食品、化妆品、公共场所等）中微生物进行检测，研究生活环境中常见的污染微生物。特别是病原微生物的种类、性质、污染来源、生命活动规律及其可能对人群造成的危害，达到及时发现微生物污染，有效防治及控制微生物污染的目的。

《卫生检验基础》课程，以研究国家和卫生行业标准检验方法为基本内容，侧重于卫生理化检验，重点体现先进性和实用性，尤其注重各种卫生检验结果的解释和公共卫生学意义的阐明，使学生在有限的时间内既能掌握基本理论知识，又能掌握最新、最实用的专业知识，培养学生使用标准检验方法分析问题、解决问题的能力，在学习过程中要逐步培养对人民群众的健康高度负责的精神、实事求是的科学态度和严谨细致的工作作风。

第一章 卫生理化检验概述

卫生理化检验有委托检测、监督检测和鉴定检测几种形式。委托检测是委托者自带检品送检，检验者不对检品来源负责，检测结果仅对检品负责。而监督检测和鉴定检测要求对检测的全过程负责，一般分为样品的采集、样品分析前处理、样品分析和报告检测结果 4 个步骤，其中的每一个环节都可能影响分析数据的质量。

第一节 样品采集

一、样品采集的原则

样品采集的基本原则是代表性。根据分析目的不同，其代表性的含义不同。

一般情况下，要用样品说明一个整体的性质时，要用均匀性和随机性来保证代表性。如从一个仓库中采集部分粮食进行分析来说明该仓库存放的粮食是否符合食品卫生标准样品，采集时首先要考虑仓库粮食的空间分布，依据均匀或随机的原则从该仓库的不同空间采集一定数量的样品（大样），再将采集的这部分样品混合均匀，用四分法多次缩量分别取出供分析用的样品（小样）。

有时，当样品分析的目的是要说明整体的某一特征时，要用典型性来保证代表性。如食品掺伪的检验，要选取特征最明显的部分采集样品进行分析，而不能因片面地强调均匀性而将样品混匀后再采样。再如劳动卫生监测中车间空气的检验，要了解作业场所所有害物质的污染程度和对劳动者健康的影响，应该在作业地点的呼吸带设采样点；若在车间均匀布点采样，其结果达不到分析目的。

二、样品采集的过程和注意事项

一般样品采集可分为制定方案、实施采集、样品保存与送检 3 个步骤。做质量控制的样品采集时还有特殊的要求。

（一）制定样品采集方案

对于监督监测和鉴定监测的采样，卫生监督或卫生监测人员要亲临采样现场，进行周密调查，了解样品的有关背景，制定样品采集方案。未经过卫生监督或监测人员采集的样品，检验部门应该拒绝接受。

对于被监测水体（如海域、河、湖泊、水库及工业废水、生活污水等）的采样，根据断面、位置、采样时间及样品数量进行周密调查和设计，使采集的样品经过分析所获得的数据能真正反映水体的真实情况。车间空气劳动卫生的监测，要根据采样目的、生产工艺和设备、有害物质逸出等情况，正确选择样品采集的地点与时机，以保证样品测定的结果能反映在采样地点工作的人员接触有毒有害因素的真实状况。在食品、化妆品

等商品经销部门采样前，了解商品生产、运输、销售等过程的全面情况；在生产部门采集样品前的调查还应涉及生产原料、生产过程、生产日期、批号、数量、包装及保质期等。通过调查，可确定样品采集方案，并可为检验项目和检验步骤等提供重要的信息。

（二）样品采集方法

根据采集样品的形态、状态、检验目的和采样现场的不同，样品采集方法及采样所使用的仪器设备也不相同，将在各章中专门介绍。

由于监测内容、检验方法及检验方法的检测限、被检测物质的浓度等不同，样品采集的数量也不同。如果被检测物质的浓度很低，检测方法的检出限也很低，样品再达不到一定的采集量，将不能进行检验或出现假阴性结果。样品采集的数量除应满足分析需要外，还要留作复检和上级部门鉴定使用。样品采集一般需采集检验所需数量的3倍。

（三）样品保存与送检

样品中的有些组分在采样后可能发生改变甚至会迅速改变，只能在现场测定或现场固定后带回实验室分析。即使可以保存的样品也应在采集后尽快送检，避免在样品保存的过程中其性质发生改变而影响测定结果。

样品在保存期间，其分析的组分会受下列因素的影响而使其浓度发生改变：①生物因素：细菌及其他生物体的新陈代谢会消耗样品中的某些组分也可产生一些新的组分，而改变样品的组成，特别是废水、食品等样品，受生物因素的影响较大。②化学因素：样品中的许多组分之间可发生化学反应而改变其含量和性质。例如水样中的溶解氧将二价铁离子氧化成三价铁离子，样品中三种组分的含量同时发生了改变，必然影响测定结果的准确性。③物理因素：如光照、温度、静置或振动等，均可使组分含量发生改变。

因此，样品在采集和保存过程中应特别注意：

1. 合理选择采样仪器、设备和容器。这些用品应不与样品的组分发生反应，并保持设备的清洁。
2. 对样品容器应密封和避免日晒，防止因受潮、挥发等因素使样品损失，更要防止样品受到污染。
3. 通常使用低温冷藏的方法以减少微生物生长繁殖，以免影响微生物检验结果，同时可防止样品腐败变质，一般不得加入影响检验的防腐剂。
4. 认真地填写采样记录。可包括采样时的气象条件、采样条件、采样数量，在采样现场样品的处理以及采样周围的环境条件等，采样记录在分析测定结果、检查检验误差、监控采样过程等有重要意义，因此记录一定要在采样现场填写，要注意实地观察和询问。

第二节 样品分析前的常用处理方法

在卫生理化检验中，由于样品的组成十分复杂，如食品、生物材料等样品中往往含有大量的有机化合物。这些大分子有机物，或与待测组分包裹，或与待测组分结合或吸附，使得其性质难以显现出来。在有些检验项目中，大量与被测组分性质相近的其他成分（习惯上称为干扰组分）同时存在，这些干扰组分在实验中也可能产生与被测组分变

化相似的现象，或与待测组分直接反应，而掩盖对被测组分性质的观察。这些因素构成了对测定的干扰，因此，在样品分析前必须采取一定的措施，将这些干扰因素消除或减少。也有的样品中被测物质含量很少，加大了检验的难度，必须在测定前提高被检物质的含量。所采取的这些处理措施称为“样品分析前的处理”，简称“样品前处理”。可见样品前处理是卫生理化检验顺利进行的保障，对保证分析结果的准确度是十分必要的。

样品前处理的方法很多，经典样品前处理的主要方法是破坏有机质，将待测组分释放出来；或利用被测组分与干扰组分性质的差异将其分离。在实际工作中，这些方法有时单独使用，有时选择几种方法使用。

选择样品前处理的原则是：

1. 被测组分与干扰组分分离完全，被测组分在处理中不得受到损失。
2. 处理过程中不得引入被测组分，也不能引入干扰组分。
3. 经处理的样品不得影响后续样品分析。
4. 尽可能不用或少用试剂，以避免由试剂引入过多的杂质。
5. 安全、简便、高效，具备相应的设备条件。

一、有机质破坏法

有机质破坏法，是将样品长时间的高温处理，或与强氧化剂作用，彻底破坏有机化合物的分子结构，所含的碳、氢、氧元素生成二氧化碳和水逸去，将其他元素释放出来，以简单无机离子的形式存在，供后续测定。有机质破坏法分为干法和湿法两大类，常应用于食品、土壤、生物材料、化妆品等样品中无机元素的测定。

（一）干法

干法又称为灰化法或灼烧法。干法的原理是将样品经高温灼烧，其中的有机化合物在高温下与氧作用生成二氧化碳和水逸去，化学结构被破坏，残留物以盐类或氧化物的无机形式存在，被盐酸溶解供测定用。

干燥的操作过程分为 3 个阶段。

1. 炭化 将样品置坩埚中，在普通电炉上加热（约 300℃），使样品脱水炭化。当水分较多的样品炭化时，应先小火加热至近干涸，再逐渐加大火力，避免样品受热过急使液体溅出，而造成被测组分丢失。

2. 灰化 将炭化样品和坩埚移至高温电炉中，通常调节温度至 500~550℃，加热 2 h（或 600℃，加热 0.5 h）。炭化的样品在高温下与空气中的氧作用，碳被氧化成二氧化碳逸去。如果残渣仍有黑色颗粒，说明灰化不彻底，可加入少量稀硝酸润湿冷却，水浴蒸干，再进行灰化。灰化完全的标志是坩埚内的样品为无黑色炭粒的灰白色粉末状残渣。

3. 溶解 灰白色粉末状灼烧残渣是样品残留的无机盐类或氧化物，可用稀盐酸溶解后过滤，滤液定容后供测定用。

由于灰化法可以不加或很少加入试剂，故很少引入杂质，试剂空白值较低。样品灼烧后，灰分的质量、体积都很小，可以通过加大取样量以提高检出率和降低实验误差。

但是，灰化法在敞口容器中进行，加热温度高、时间长，有些组分（如汞等）受热

易散失，不能用该法进行样品前处理。如果灰化温度超过 600 ℃，钾、钙、氯等元素易挥发损失造成误差，磷酸盐也熔化凝结成固形物，包裹炭粒，使灰化难于完全，所以灰化温度不得超过 600 ℃。另外，灰化在高温条件下的坩埚内进行，有些组分被吸留在坩埚壁上而无法被酸溶解，形成“持留损失”，致使测定的回收率降低。可见，上述问题的存在，使灰化法的应用受到一定的局限。

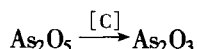
现代低温等离子技术的应用，灰化温度降至 200 ℃ 以下，大大减少了元素的损失。另外，灰化法在样品中加入助灰剂，也可以加速有机物氧化，防止某些被测组分挥发和吸留。常用的助灰剂有碳酸钠、氢氧化钠、氧化镁、氧化钙、硝酸镁、磷酸钠盐及硝酸、硫酸、过氧化氢等。

(二) 湿法

湿法，又称消化法。在强酸性和加热沸腾的条件下，样品中的有机化合物被强氧化剂氧化，其化学结构被破坏，将待测元素释放出来。湿法有机质破坏与干法相比，操作温度较低，减少了待测组分挥发散失的机会；另外，湿法破坏有机质使用的设备、仪器比较简单，因此湿法的应用较多。

湿法常用浓硫酸提供酸性条件。浓硫酸沸点高（硫酸的沸点 338 ℃），使消化可以在较高温度下进行，以加快消化速度。另外，浓硫酸的脱水作用，可使样品中的有机化合物首先脱水炭化，氧化剂再与碳作用生成二氧化碳，加速有机化合物结构的破坏。尽管浓硫酸也有氧化性，但它与氧化能力更强的氧化剂在一起时，通常并不显示其氧化能力。尽管样品炭化加速有机物分解，会加快消化速度，但是炭化现象，一方面会在样品表面形成炭化层，进一步使消化困难；另一方面碳的还原性可造成部分待测元素损失，例如炭化现象可造成砷元素的损失：

氧化剂充足时 氧化剂不充足（发生炭化）时



As_2O_3 在 193 ℃ 升华，在消化温度下易损失。因此，要防止样品消化在炭化阶段停留，称之为“防炭化”。防炭化的重要措施，就是在消化过程中及时补加氧化剂。

消化常用的氧化剂有硝酸、高氯酸、过氧化氢、高锰酸钾等。有时单独使用一种氧化剂，有时 2 种以上的氧化剂混合使用。通常根据使用氧化剂的种类，给湿法分类和命名。如硝酸 - 硫酸法，高氯酸 - 硝酸 - 硫酸法，硝酸 - 高氯酸法、硫酸 - 过氧化氢法等。以下介绍硝酸 - 硫酸法的操作过程。

硝酸 - 硫酸法破坏有机质的过程可分为五个阶段。

1. 硝酸浸泡 按实验要求称量适量样品，置凯氏烧瓶中，加入数毫升硝酸，混匀。放置一段时间，按图 1-1 所示安装湿法破坏样品装置。用小火使样品溶化，

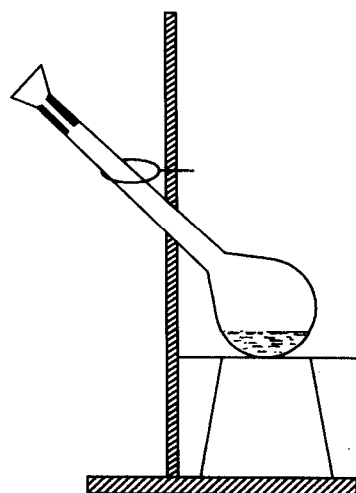
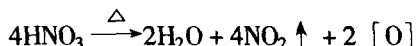


图 1-1 湿法破坏样品装置

放冷。消化液呈黄色。

硝酸不稳定，加热会分解出新生原子氧，有机化合物中的 C、N、S、H 等均可被氧化成 CO_2 、 NO_2 、 SO_2 、 H_2O 等。在硝酸 - 硫酸法消化系中主要由硝酸提供氧化能力。



2. 加入硫酸，开始消化 向凯氏烧瓶内小心加入浓硫酸适量，渐渐加强火力，保持消化体系处于微沸状态。此时液体呈黄色，气体呈现二氧化氮的棕红色。

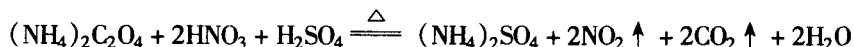
3. 消化过程中，及时补加氧化剂，防止碳化 加热过程中，如发现液体的颜色变深，气体颜色变浅，说明氧化剂的量不足，是将要出现炭化的先兆。此时应及时补加硝酸。补加硝酸时先停止加热待瓶稍冷后添加数毫升硝酸，再继续加热。

4. 终止消化 第三步反复操作至瓶内容物呈无色或仅带微黄色时，取下漏斗，继续加热至发生三氧化硫浓厚白烟，放冷，终止消化。

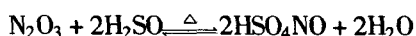
5. 脱硝 液体中剩余的硝酸及消化过程中产生的氮氧化物都有较强的氧化性，会造成后续测定的困难。因此，应去除氧化性的硝酸和氮氧化物，这个过程称为“脱硝”。脱硝的方法如下。

加水及饱和草酸铵溶液，煮沸，直至产生三氧化硫浓厚白烟。放冷，将消化液用水小心稀释后，转移至容量瓶中，用水洗涤凯氏烧瓶，洗液并入容量瓶中，冷至室温，加水至刻度，混匀供测定用。

草酸铵具还原性，可与氧化性物质作用，达到脱硝的目的。



加水也是为了脱硝。在消化后期，硫酸浓度逐渐增高，当浓度增高至一定程度 ($> 57.5\%$) 时，硫酸与氮氧化物反应生成稳定的亚硝基硫酸。



加水之后，该化学平衡向左方移动，在加热的条件下，氮氧化物逸去，达到脱硝的目的。

硝酸具有较强的溶解能力和氧化能力，但沸点较低 (121.8°C)，不耐受高温，氧化能力不持久，消化过程中需多次补加，且补加硝酸时要将消化液冷却后，沿瓶壁缓缓加入，以免补加的硝酸迅速分解冲出瓶口。

高氯酸的氧化能力超过硫酸和硝酸，几乎能分解所有有机化合物，可以明显缩短消化时间。实践中，检验者常常补加硝酸 + 高氯酸 (1:1, v/v) 混合酸 (即高氯酸 - 硝酸 - 硫酸法)，以提高消化速度。但是，浓高氯酸在高温下是很强的氧化剂，接触大量的还原性物质时，反应激烈难以控制，容易发生爆炸。因此，使用高氯酸要注意：①3 种酸的加入顺序为硝酸、硫酸、高氯酸；先加入硫酸，样品易炭化；先加入高氯酸，反应过于激烈易爆炸。②决不能将消化液烧干，掌握蒸发至近干涸即可。③消化过程中补加混合酸，而不单独使用高氯酸；一般当样品消化不彻底时，在消化的后期，待还原性物质大大减少后才加入少量高氯酸。消化结束后，高氯酸 - 硝酸 - 硫酸法也需要脱硝。

湿法有机质破坏过程中，硫酸、硝酸、高氯酸等在加热时分解，会产生大量的刺激