

全国高等医药院校教材

# 生物材料检验

(供卫生检验专业用)

鲁长豪

主编

练引林

主审

四川科学技术出版社

全国高等医药院校教材

# 生物材料检验

(供卫生检验专业用)

鲁长豪 主编

鲁长豪 牟文萱 张义光 张宏绪 编  
李加尧 陈震阳 许金生 黄小玲

绿引林 主审

四川科学技术出版社

1990年·成都

责任编辑：史兰英  
封面设计：李 勤  
技术设计：兰 草

全国高等医药院校教材  
生物材料检验

鲁长豪 主编                      线引林 主审

---

四川科学技术出版社出版发行  
(成都盐道街三号)  
四川省新华书店经销  
四川新华印刷厂印刷  
ISBN 7-7364-1552-4/R·203 (课)

---

1990年2月第1版 开本787×1092毫米 1/16  
1990年2月第1次印刷                      字数 246 千  
印数 1—6000 册                              印张 10.5  
定 价：3.45 元

## 编写说明

《生物材料检验》为卫生检验专业配套教材之一。这套教材中的《食品检验》、《空气检验》和《水质检验》等已由四川科学技术出版社于1987~1988年出版。这套教材不仅可供卫生检验专业学生作为教科书，也可供各级卫生防疫站、环境监测站、食品卫生监督检验所和劳动卫生职业病防治研究所等单位从事卫生检验工作的人员作参考书；还可作为各地培训卫生检验人员、自学提高、升等晋级和研究生入学考试的参考教材。

《生物材料检验》是由华西医科大学、哈尔滨医科大学、衡阳医学院、广东医药学院、湖北药检专科学校、北京市劳动卫生职业病防治研究所合编的教材。由华西医科大学鲁长豪教授担任主编，中国预防医学科学院钱引林研究员担任主审。

本书共分五章，内容包括绪论、常用仪器分析方法介绍、生物材料中无机毒物的检验、有机毒物及其代谢产物的检验、生物材料检验方法研制和质量控制。本书以我国常用的生物材料检验方法为基础，参考“NIOSH”等先进国家的标准分析方法，力求从理论上系统地解释实验原理和操作注意点。全书采用国际单位制或国家允许使用的单位，并尽可能统一所用符号。

在编写本教材的过程中，曾得到各有关单位的大力支持；赵宗信为本书撰写书稿；王礼冰、吴国正为本书绘制插图；在此一并表示感谢。由于编者水平和实践经验有限，书中不妥之处，恳请读者不吝赐教。

编者

1989年6月

# 目 录

## 第一章 绪论

第一节 生物样品的收集与保存	1
一、尿样的收集与保存	1
二、血样的收集与保存	2
三、头发和指甲的收集与保存	3
四、组织和脏器的收集与保存	3
第二节 生物样品的预处理	3
一、消化方法	3
二、分离方法	5

## 第二章 常用仪器分析方法介绍

第一节 原子吸收光谱法	7
一、基本原理	7
二、火焰原子吸收光谱法	8
三、石墨炉原子吸收光谱法	9
四、氢化物发生原子吸收光谱法	9
五、冷原子吸收光谱法	11
第二节 气相色谱法	11
一、气相色谱分析流程	11
二、色谱柱	11
三、检测器	13
四、色谱流出曲线	14
五、气相色谱法的特点	16
第三节 电化学分析法	17
一、经典极谱分析的基本原理	17
二、示波极谱法	19
三、溶出伏安法	23
四、电位溶出法	26

## 第三章 生物材料中无机毒物的检验

第一节 尿铅和血铅的测定	28
一、概述	28
二、双硫脲比色法测定尿铅	30
三、氢化物发生-原子吸收光谱法测定尿铅	33
四、石墨炉原子吸收光谱法测定尿铅	35
五、示波极谱法测定尿铅	36

六、阳极溶出伏安法测定血铅	38
七、微分电位溶出法测定尿铅	39
八、接触铅的几种生化指标 ( $\delta$ -ALA、FEP、ZPP) 测定简介	40
第二节 尿镉和发镉的测定	43
一、概述	43
二、萃取-原子吸收光谱法测定尿镉	45
三、催化极谱法测定尿镉	46
四、阳极溶出伏安法测定发镉	47
五、电位溶出法测定发锌、铜、铅、镉	47
第三节 尿汞的测定	48
一、概述	48
二、用汞蒸气仪测定尿汞	49
第四节 尿铬和血铬的测定	52
一、概述	52
二、石墨炉原子吸收光谱法测定尿铬和血铬	53
三、分光光度法测定尿铬	54
第五节 尿钒的测定	56
一、概述	56
二、石墨炉原子吸收光谱法测定尿钒	57
三、示波极谱法测定尿钒	59
第六节 尿镍的测定	60
一、概述	60
二、丁二酮肟比色法测定尿镍	61
三、5-Br-PADAP 分光光度法测定尿镍	62
四、萃取-火焰原子吸收光谱法测定尿镍	64
五、示波极谱法测定尿镍	65
第七节 血硒和尿硒的测定	65
一、概述	66
二、荧光分光光度法测定血硒和尿硒	67
三、氢化物发生-原子吸收光谱法测定血硒和尿硒	68
四、催化极谱法测定血硒	69
第八节 尿砷和发砷的测定	70
一、概述	70
二、AgDDC 比色法测定尿砷和发砷	72
三、HGAAS法测定尿砷	74
第九节 尿氟的测定	75
一、概述	75
二、扩散比色法测定尿氟	76
三、蒸馏比色法测定尿氟	79
四、氟离子选择电极法测定尿氟	80

第十节 尿碘的测定	82
一、概述	82
二、砷-铈催化比色法测定尿碘	83
三、顶空气相色谱法测定尿碘	85
第四章 有机毒物及其代谢产物的检验	
第一节 呼出气中苯和尿中酚的测定	87
一、概述	87
二、气相色谱法测定呼出气中苯	88
三、4-氨基安替比林比色法测定尿中酚	89
四、气相色谱法测定尿中酚	90
第二节 尿中马尿酸和甲基马尿酸的测定	92
一、概述	92
二、吡啶-苯磺酰氯比色法测定尿中马尿酸	93
三、薄层层析法测定尿中甲基马尿酸或马尿酸	94
第三节 呼出气中氯乙烯和尿中硫撑双乙酸的测定	97
一、概述	97
二、气相色谱法测定呼出气中氯乙烯	98
三、气相色谱法测定尿中硫撑双乙酸	99
第四节 呼出气中三氯乙烯和尿中三氯乙酸的测定	101
一、概述	101
二、气相色谱法测定呼出气中三氯乙烯	102
三、分光光度法测定尿中三氯乙酸	103
四、脱羧气相色谱法测定尿中三氯乙酸	103
五、酯化气相色谱法测定尿中三氯乙酸	104
第五节 尿中五氯酚的测定	105
一、概述	106
二、4-氨基安替比林分光光度法测定尿中五氯酚	107
三、亚甲蓝分光光度法测定尿中五氯酚钠	108
四、气相色谱法测定尿中五氯酚	110
五、高效液相色谱法测定尿中五氯酚	111
第六节 尿中杀虫脒和对氯邻甲苯胺的测定	112
一、概述	112
二、偶氮分光光度法测定尿中杀虫脒和对氯邻甲苯胺	113
三、气相色谱法测定尿中杀虫脒和对氯邻甲苯胺	116
第七节 全血胆碱酯酶活性的测定	117
一、概述	117
二、三氯化铁比色法测定全血胆碱酯酶活性	118
三、DTNB 分光光度法测定全血胆碱酯酶活性	121
第八节 血中碳氧血红蛋白的测定	123
一、概述	123

二、分光光度法测定血中碳氧血红蛋白·····	124
三、用一氧化碳仪间接测定碳氧血红蛋白·····	125
<b>第五章 生物材料检验方法研制和质量控制</b>	
<b>第一节 生物材料检验中建立测定方法的要求</b> ·····	127
一、基本原则·····	127
二、试验阶段·····	128
三、可靠性试验·····	129
四、测定结果的计算·····	129
五、方法验证·····	130
<b>第二节 生物材料正常值的确定</b> ·····	130
一、确定正常值的意义·····	130
二、确定正常值的要求·····	130
三、确定正常值范围的步骤·····	131
四、正态性检验方法·····	133
五、正常本底值范围的计算·····	137
<b>第三节 生物材料检验的数据处理</b> ·····	140
一、几个常用术语的含义·····	140
二、数据处理·····	143
三、t 检验·····	145
<b>第四节 生物材料检验质量控制</b> ·····	146
一、实验室内部质量控制·····	146
二、实验室间的质量控制·····	153
<b>附录</b>	
一、本书采用的计量单位和符号·····	155
二、校正尿比重到1.020的系数·····	155
三、生物接触指数 (BEI)·····	156
<b>主要参考文献</b> ·····	157



## 第一章 绪 论

为了反映毒物进入机体所造成的危害程度,常需对生物材料中的某些成分进行测定,以了解机体接触毒物的情况,为职业中毒诊断和疗效观察提供重要的参考指标。有时为了观察机体正常组分的含量水平,为地方病防治诊断或检查青少年生长发育状况提供依据,也需进行生物材料的检验。

由于毒物经呼吸道、消化道、皮肤等途径进入人体后,随血液循环分布于全身,有些毒物可蓄积于某些组织和器官,但大部分通过肾脏、肠道、毛发、汗液、唾液、肺泡和乳汁等途径排出。因此,供检验的生物材料,可采用尿液、血液、呼出气、胃液、胆汁、汗液、唾液、乳汁、粪便、毛发、指甲、骨以及动物的脏器组织等。

生物材料检验中,较经常测定的项目,有铅、汞、砷、氟、苯、甲苯、二甲苯及其代谢产物、全血胆碱酯酶等,有时还测定镉、铬、钒、镍、硒、碘、氯乙烯、杀虫脒等。

检验结果目前多与未接触该毒物的健康人生物材料中各成分的含量(即正常值)进行比较。近年来,我国许多地区对毒物及其代谢产物的正常值进行了大量的调查研究工作。鉴于生物材料中各种成分的含量受环境污染、饮食等因素影响,且随采样及测定方法的不同而异,故同一成分的正常值,各地可有不同。因此,在选用正常值时,应注意其所采用的测定方法及地区差异。

### 第一节 生物样品的收集与保存

生物样品的种类繁多,为了使检验结果能正确地反映真实情况,必须注意选择检验样品的种类、收集样品的时间以及保存条件。

一般说来,凡尿液、血液、胃液、胆汁、汗液、唾液、呼出气、乳汁、粪便以及其他生物材料如毛发、指甲、骨和动物脏器等,均可作为不同检验目的样品。但用得最多的是尿液,其次是血液、头发、呼出气等。

#### 一、尿样的收集与保存

进入机体的极大多数毒物及其代谢产物均可从肾脏排出,且多数毒物在尿中的含量与其在血中的浓度有较大相关,由于尿样的收集比较方便,因此,多采用尿液进行检验。为使收集的尿样具有代表性,使分析结果能反映实际情况,必须注意以下几点:

##### (一) 尿样的收集时间

由于某些毒物从体内排出无规律,一昼夜间尿中含量波动较大,故常需取 24h 尿混合后,取适量进行分析,此称为 24h 尿或全日尿。人的一天平均尿量为 1000~1500ml,但受饮水量和排汗量的影响较大。由于分析时采用混合均匀的尿,计算时按 24h 排出某成分的总量计,故收集 24h 尿进行分析,不会受某些毒物排出无规律的影响,也不受饮

水和排汗量的影响。但收集 24h 尿的最大缺点是麻烦，在夏天因保存时间过长还容易腐败。

对某些毒物排泄速度较快，当停止接触后，尿中被测物质含量明显降低者，可采用上班前、上班时和下班后分别留尿样分析的方法，以了解机体接触该毒物的情况。

用得最普遍的是晨尿，优点是收集尿液较方便，对多数测定均能反映实际情况。有时为了精确起见，可采用将尿校正到标准比重（我国用 1.020 为尿的标准比重），然后计算其浓度的方法，这样可减少由于饮水量和排汗量的影响，明显缩小各次采样之间的误差，使一次尿样和 24h 尿样的结果较接近。校正的具体方法是：

$$C_{\text{校}} = C_{\text{未}} \times \frac{1.020 - 1.000}{d - 1.000} = C_{\text{未}} \times K$$

式中： $C_{\text{校}}$  为经校正后的尿中某成分的浓度（mg/L）， $C_{\text{未}}$  为未经校正的尿中某成分的浓度（mg/L）， $d$  为尿样实际测得的比重， $K$  为校正尿比重到 1.020 的系数，可查本书末之附录二。

除了用比重校正尿样外，也有人提出用肌酐校正的方法，认为健康人一日排尿所含肌酐量为 1.8g 左右，故建议以 1.8g 肌酐所相当的被测成分的毫克数，来代表全日尿中某成分的含量。换算公式为

$$\text{尿中某成分的含量 (mg/d)} = \frac{\text{实测浓度 (mg/L)}}{\text{肌酐浓度 (g/L)}} \times 1.8 \text{g/d}$$

## （二）收集尿样的容器和保存条件

晨尿及随机尿通常收集于 500ml 清洁的硬质玻璃瓶或聚乙烯塑料瓶中。盛放测定尿铅、尿汞的容器，需事先用稀硝酸浸泡，然后用水冲洗干净，晾干备用。

24h 尿样一般收集于清洁的 2L 硬质玻璃瓶中。由于收集的时间较长，可考虑加入少量防腐剂（如每升尿中加氯仿 2~3 ml），并注意贮于阴凉处。对测定尿铅、尿汞等样品，常在 1L 尿中加入硝酸 5 ml，以防腐、防盐类沉淀、防止汞挥发及容器壁吸附。

## 二、血样的收集与保存

血液中有毒物质的浓度，可反映机体近期接触该毒物的程度，常与体内吸收的毒物量呈正相关，由于血样具有含量较稳定、波动小、取样污染机会少以及不受肾功能的影响等优点，因此，测定血中某成分的浓度更有意义。但由于取血手续较烦，受检者不易接受，因而在实际工作中，血样远不如尿样应用普遍。

收集微量血液，可自指头或耳垂采取，需要收集 0.5ml 以上的血液，可自肘部抽取静脉血，放入清洁干燥的聚四氟乙烯或聚乙烯管内，备分析用。取血时间最好在早餐前，如检验需用全血时，可将血液收集于盛有少量抗凝剂的容器内，抗凝剂的浓度勿太高，以免影响以后的测定，一般每毫升血可加入肝素 0.1~0.2mg；或 1~2mg 草酸钠或氟化钠。血液中有毒物质含量常以每 100ml 血中所含该物质的毫克数表示。

采血过程应避免污染。使用不干净的采样器具，皮肤消毒不良，血中加入含杂质的抗凝剂以及使用不适当的容器存放血样，都会造成严重污染。目前国际上要求使用不带颜色的塑料器皿，一般按以下次序选择：聚四氟乙烯、聚乙烯、石英、白金、硅硼玻璃。

分析血中金属有害物，容器应不含该金属，一般应先用洗涤剂洗净，再用稀硝酸或稀盐酸浸泡，然后用去离子水反复冲洗，干燥备用。

### 三、头发和指甲的收集与保存

有些毒物如砷、镉、铬、汞、铅等可较长时间蓄积于头发和指甲内，因此，在脱离接触后，毒物在尿液、血液中含有量已经明显降低，而在头发和指甲中含有量仍然较高，故检验毒物在头发和指甲中的含量就具有一定的价值。由于头发和指甲的收集、保存、携带都较方便，近些年来作了大量的工作，但需注意头发和指甲表面易受污染，测定前必须洗涤干净。既要洗涤干净外源性污染物，又不能使内源性成分溶出，这是一个值得深入研究的课题。分析时，考虑到长发的各部位蓄积的毒物含量不同，有时需要分段测量，以反映实际情况。通常采集枕部距头皮 2 cm (或 5 cm) 以内的头发，经洗净、干燥、混匀后作为分析样品。

### 四、组织和脏器的收集与保存

在毒物的毒性试验和毒理学研究方面，常用动物的组织和脏器作为检验样品，以探讨毒物在机体内的分布和蓄积情况。此外，在法医学方面，对于偶然中毒事故而死亡者进行尸检时，亦有采用。

其他样品的收集原则基本一致，总的要求是样品收集后应尽快进行检验，以避免挥发、氧化、分解、变质，影响检验结果。如不能及时送检，应将样品放在阴凉处或暂放冰箱内。

## 第二节 生物样品的预处理

在测定生物样品中的金属和非金属毒物时，由于存在有机物质及杂质的干扰，因此在分析前要将样品先经过消化处理，使其中的有机物质完全破坏，然后进行测定。对于被测成分为有机物时，常需通过溶剂萃取法、挥发法和蒸馏法、共沉淀法等分离手段进行预处理。

### 一、消化方法

破坏有机物质的方法可分为两类：一类为湿消化法，一类为干灰化法，可根据样品及被测元素的性质选用。

1. 湿消化法：用强氧化性酸，配合其它氧化剂，并结合加热，使所有有机物破坏。常用的氧化性酸类有硝酸、硫酸和高氯酸。常用的氧化剂有高锰酸钾和过氧化氢等。

用硝酸作氧化性酸消化有机物，适用于大多数有机样品，它的优点是快速、简便，而消化的温度不会高到造成损失。当测定易挥发的金属（如汞、铊、硒）时，要用回流冷凝装置或者在室温下进行消化。对于含有相当量碱土金属的有机样品，不宜用硫酸消化，以免生成不溶性硫酸盐而吸附一部分微量金属。常用的几种消化方法：

(1) 用硝酸和硫酸消化：取样品于凯氏瓶或锥形瓶中，加入一定量硝酸，缓缓加热直到剧烈反应停止，冷却，慢慢加入一定量硫酸，加热直至溶液开始变黑时，从电炉或

电热板上取下，慢慢加入硝酸再加热，如又变黑，再加硝酸，重复操作，直至冒白烟，在冷却时溶液应无色或淡黄色。为了消除亚硝酰硫酸和二氧化氮的干扰，还应加入饱和草酸铵溶液适量，继续加热到硫酸白烟消失。冷却后加少量水，加温溶解内容物并转移至容量瓶中，定容作为样品溶液。

本法广泛用于破坏有机物质，优点是快速、易控制，缺点是不适宜破坏含较多碱土金属的有机物质。此外，用本法测硒时结果偏低。

(2) 用硝酸、高氯酸和硫酸消化：取样品于凯氏瓶或锥形瓶中，加硝酸若干毫升，摇匀，待反应平静时，加高氯酸和硫酸在电炉上加热，瓶内产生大量棕色气体后，再加入数毫升硝酸，继续加热，直至冒白烟，冷却，加水 5 ml，再加热至冒白烟。

此法适用于含有机物较多的生物样品的消化。由于反应剧烈，操作时应特别注意。

(3) 用硝酸和高氯酸消化：取样品于凯氏瓶或锥形瓶中，加一定量硝酸，缓缓煮沸 30 min，冷却，加高氯酸继续加热直至冒白烟、溶液无色或接近无色为止。

本法不用硫酸，快速易控制，适用于含钙量高的样品和破坏蛋白质、碳水化合物之类的物质。但在消化过程中特别在加热浓缩时要小心谨慎，防止高氯酸引起爆炸。

(4) 用于测定汞的特殊消化法：汞在常温下就能挥发损失，因此上列方法均不适用。常用回流消化法和冷消化法。

消化时一般使用长颈凯氏烧瓶，如果敞口消化，往往要多次追加硝酸，为了节省试剂和消化时间，并减少氮氧化物对环境的污染，可在瓶口盖上高形烧杯再加热。使用盖上表面皿的锥形瓶在电热板上加热消化的方法，由于反应平稳，可节省消化试剂，一个电热板上可放很多个锥形瓶同时消化，对大批样品的分析，可节省消化时间。对毛发、指甲、脏器较干燥的样品，可先加硝酸浸泡过夜，这样，不仅样品容易消解，而且可防止在加热时产生泡沫，节省试剂和时间。高氯酸的氧化能力强，当样品用硝酸很难分解时，可结合使用高氯酸。对某些样品，放在内衬聚四氟乙烯的消化弹内进行加压消化，不仅可提高消化效率，而且节省试剂，降低了空白值。

2. 干灰化法：将生物材料置于坩埚中，蒸发至干并炭化，然后在高温炉（马弗炉）中灼烧使灰化，直至样品中的有机物全部除去变成白色残渣为止。如经一次灼烧仍含黑色炭粒，应重复灼烧。残渣中加入适当试剂使之溶解，并用水稀释成样品溶液。

干灰化法操作简便，加入试剂少、空白值低，特别适用于处理大批样品，但费时较长。为了帮助灰化，有时还可加助灰化剂，下面介绍几种常用的加助灰化剂的灰化法：

(1) 用硝酸作助灰化剂的灰化法：取适量样品于坩埚中，先用小火加热使其炭化，然后加入硝酸使残渣湿润，在小火上蒸干后，放入高温炉灰化 4~6 h，如不彻底，则再加硝酸直至样品灰化完全为止。

加硝酸灰化很少影响回收率，并有助于得到干净的灰分，灰分易溶于稀酸。测镉时用此法易引起镉的挥发损失。操作时要注意应使有机物基本炭化后才加硝酸，因为在太多的炭存在时加硝酸，炭会燃烧而引起痕量元素的严重损失。

(2) 用硫酸作助灰化剂的灰化法：取适量样品于坩埚中，先小火加热直到除去所有易挥发及易燃物质，冷却，沿器壁加入硫酸，湿润残渣，小心加热直至白色烟雾停止放出，再强热使得干净的灰分。最后加数滴硫酸湿润，缓缓加热直至冒白烟为止，这时

避免强烈灼烧是为了尽可能保持灰分为硫酸盐。

此法适用于含灰分较少的样品，缺点是氧化速度较慢。

(3) 用硝酸镁和氧化镁作助灰化剂的灰化法：取适量样品于坩埚中，加硝酸镁溶液浸泡，上面覆盖氧化镁粉末，先小火加热使蒸干并炭化，然后移置高温炉中灰化数小时，直至灰化完全为止。

本法适宜作砷测定时的灰化，使砷变为焦砷酸镁 ( $Mg_2As_2O_7$ ) 而避免挥发损失。氧化镁的作用是使残渣疏松，有利于灰化。

为了避免高温灰化引起被测成分的挥发损失，目前已有使用低温灰化法，其原理是利用在高频电磁场中被激活的氧来灰化样品，往往在低于  $100^\circ C$  的温度就能灰化完全，克服了高温灰化时那种因不溶解、器壁吸附、挥发等原因所造成的损失。基本操作是将样品放在石英灰化皿内，在真空度  $1\text{ mTorr}$ 、氧气流量  $100\sim 150\text{ ml/min}$ 、功率  $150\text{ W}$  条件下，灰化  $18\sim 20\text{ h}$ ，然后用少量盐酸溶解，加水适当稀释后便可作分析用的样品溶液。

## 二、分离方法

分析有机物或其代谢产物，常用分离和净化的方法，以除去干扰成分，使被测成分适合分析的要求。常用的分离方法有以下几类：

1. 溶剂萃取法：利用溶质在两种互不相溶的溶剂中溶解度不同，通常使被测成分进入有机相，干扰成分留在水相，从而达到分离的目的。例如，铅接触者尿中  $\delta$ -氨基乙酰丙酸的测定可在  $\text{pH}4.6$  及温度  $100^\circ C$  条件下， $\delta$ -氨基乙酰丙酸与乙酰乙酸乙酯缩合成吡咯化合物，此化合物被乙酸乙酯萃取，取萃取液便可进行测定。某些无机离子当与有机配位剂螯合或形成离子缔合物，亦可被有机溶剂萃取。例如铅离子与双硫脲螯合被氯仿萃取；镉离子与吡咯烷二硫代氨基甲酸铵配位，用甲基异丁酮萃取；又如用乙醚萃取盐酸溶液中的铁，这是基于铁在盐酸溶液中形成  $\text{FeCl}_4^-$  配阴离子，乙醚与  $\text{H}^+$  配位形成  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{OH}^+$  阳离子，两者能结合成  $[(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{OH}]^+[\text{FeCl}_4]^-$  离子缔合物而被乙醚萃取。

溶剂萃取法不仅能除去干扰成分，达到分离和净化的目的，而且对被测成分有一定的富集作用，适合低含量组分的分析，设备简单，但因手工操作，批量分析工作量较大，有机溶剂易挥发、易燃、有毒，操作时应注意。

2. 挥发法和蒸馏法：这是利用有机物质的挥发性来进行分离的方法。挥发法较简便，常加酸或其他释放剂使被测成分挥发，如尿氟的测定，可将尿样放在塑料扩散盒中，加入高锰酸钾-硫酸-硫酸银于低温下反应，尿中氟以氟化氢形式挥发至涂有氢氧化钠的顶盖上，与不挥发的杂质达到很好的分离。又如测定血中乙醚、氯仿、乙醇、甲醇和丙酮等挥发性有机物质时，可将血样装入小玻璃瓶中，加入碳酸钾后密封，于水浴上恒温数十分钟，使气液达到平衡，再用注射器抽取气体直接注入气相色谱仪进行测定，此称为顶空分析法 (head space analysis)。蒸馏法也是分离挥发性有机物质的常用方法，蒸馏时常加酸或碱调节溶液的  $\text{pH}$  值，然后加热或通入水蒸气进行蒸馏，一般收集馏液  $50\text{ ml}$ ，取其适量进行分析。例如对尿中酚的测定和尿中氟的测定，虽然安装水蒸气蒸馏装置比较繁琐，但分离出的挥发性有机物质较纯，有利于分析。

3. 共沉淀法：当一种沉淀从溶液中析出时，溶液中某些组分随之被沉淀带下而混入

沉淀中，这种现象称为共沉淀。通常沉淀时都要加入共沉淀剂，分析时将沉淀分离后经消化或溶解处理便可进行测定。如曾用蛋白沉淀法测尿汞，用氨水集锰法测定生物材料中的锰。共沉淀法较适用于大量样品溶液的分离，但方法的选择性不高。

(鲁长豪)

## 第二章 常用仪器分析方法介绍

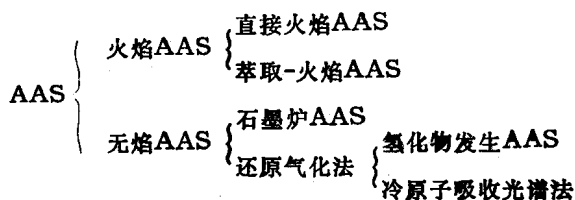
在生物材料检验中，常用的分析方法有：比色法和分光光度法、原子吸收光谱法、气相色谱法、电化学分析法等。比色法和分光光度法已较成熟，本章着重介绍后三类仪器分析方法。

### 第一节 原子吸收光谱法

原子吸收光谱法 (atomic absorption spectroscopy, 简称AAS)，又称原子吸收分光光度法。自从1955年澳大利亚物理学家 A. Walsh 提出以来，在测定几乎所有的金属和部分类金属元素方面，得到广泛的应用。它具有灵敏度较高，干扰较少，结果准确可靠，操作简便快速等优点。在生物材料检验中，常用来测定铅、镉、汞、铬、钒、镍、硒、砷等元素含量。

#### 一、基本原理

原子吸收光谱法是基于从光源发射出待测元素特征的共振线，通过样品中待测元素所产生的基态原子，根据共振线被基态原子吸收的程度，来测定其含量的分析方法。原子吸收光谱仪由光源、原子化器、分光系统和检测系统四部分组成。光源通常用空心阴极灯或无极放电灯，作用为发射出待测元素特征的共振线；分光系统通常由光栅、凹面镜和狭缝等单色器部件所组成，其作用是从光源所发射的谱线中分离出单一的原子谱线；检测系统由检测器（常用光电倍增管）、放大器和指示仪表所组成，使光信号转变为电信号，通过仪表指针或数字显示读取吸光度值；原子化器是原子吸收光谱仪的核心部件，其作用是使样品中的待测成分转变成基态原子，并使其进入光路。要求原子化器有尽可能高的原子化效率，并要求稳定性高，重现性好，背景和噪声小，干扰少，装置简单。根据产生基态原子的方法不同，原子化器可分为火焰原子化器和无火焰原子化器两大类，后者又分为石墨炉原子化器和还原气化装置，并由此构成各种原子吸收光谱法。



火焰原子吸收光谱法具有简单、快速、对大多数元素有较高的灵敏度和较低的检出限等优点，所以至今使用仍很广泛。无焰原子吸收光谱法近十多年来发展很快，它比火焰原子化技术有较高的原子化效率，灵敏度和检出限也改善得多，尤其是石墨炉原子化

器有需样量少的特点，在生物材料检验中的应用特别广泛。

## 二、火焰原子吸收光谱法

火焰原子吸收光谱法是利用火焰的高温，使样品中的待测元素转变为基态原子，吸收由空心阴极灯发射出来的该元素的共振线，根据吸光度与浓度成正比的关系来测定含量的方法。火焰原子化器由雾化器和燃烧器两部分组成。雾化器的作用是将试样溶液变成高度分散状态的雾，要求雾滴细而均匀，雾化效率高。目前普遍采用的是同心型雾化器，利用助燃气经毛细管高速喷出所造成的负压，使试液沿进样毛细管吸入，并被高速气流分散成气溶胶，喷出的雾滴经节流管碰在撞击球上进一步被分散为细雾滴。较大的雾滴不能进入火焰，凝聚成液珠后从废液管排出。细雾滴、助燃气、燃气经充分混合后，进入燃烧器。一般只有10%左右的喷雾溶液进入火焰。燃烧器的作用是利用火焰加热，使试样原子化。目前广泛采用缝式燃烧器，常用的燃气为乙炔、氢气、煤气、丙烷；助燃气为空气、氧气、氧化亚氮等。火焰原子吸收光谱法常用的几种混合气体和火焰温度为，空气-乙炔焰：2100~2400℃；氧气-乙炔焰：3000~3100℃；氧化亚氮-乙炔焰：2600~2800℃；空气-氢火焰：2000~2100℃；氧气-氢火焰：2500~2700℃。其中以空气-乙炔焰最为常用，用这种火焰可以测定35种以上的元素，但不宜测定铝、铬、铍等难于原子化的元素，并且这种火焰在短波范围内对紫外线吸收较强，信噪比较差。而氧化亚氮-乙炔焰由于火焰温度高，并在火焰中形成强还原气氛，可用来测定空气-乙炔焰不能分析的难解离元素，但此火焰不太安全，使用时应特别小心。

火焰温度除主要取决于火焰类型外，还与助燃气和燃气的比例有关。因而，调节不同的助燃比，可获得有利的测试条件。化学计量性空气-乙炔焰，其助燃气和燃气的量基本上是按它们之间的化学反应提供的，它具有温度高、干扰少、稳定、背景小等特点。富燃性空气-乙炔焰，其燃气量比上述火焰所需量大，由于燃烧不完全，火焰具有较强的还原性气氛，适于测定较易形成难熔氧化物的元素，如钨、钼、稀土元素等。贫燃性空气-乙炔焰，由于燃气量较少，大量冷的助燃气带走火焰中的热量，故火焰温度较低；又由于助燃气充分，燃烧较完全，火焰中半分解产物少，故还原气氛最低，适用于碱金属元素的测定。

乙炔可用稳压乙炔发生器通过电石( $\text{CaC}_2$ )与水反应供给，但最好由钢瓶供给。由于乙炔钢瓶内装有丙酮和活性炭等，当其压力接近 $5\text{ kg/cm}^2$ 时，应及时更换，否则因丙酮等流出进入火焰，造成燃烧不稳定，噪声增大，给测定带来困难。

在原子化过程中，样品溶液是在火焰的高温下蒸发、离解并生成基态原子。因此，火焰必须有足够高的温度，需足以使待测元素离解成游离的基态原子；但火焰温度又不能过高，不然待测元素的激发态原子数增多，电离成离子的部分也增加，都会造成基态原子数减少，对分析不利。故在实际操作中应根据不同的待测元素，选用恰当的火焰类型，合适的助燃比和火焰高度。

直接火焰原子吸收光谱法操作简便，测定速度快，但灵敏度不够高，如采用萃取-火焰原子吸收光谱法，将待测元素先与配位剂形成螯合物，增加其疏水性，再用有机溶剂进行萃取，取萃取液送入火焰中原子化，这不仅提高了测定的灵敏度，而且减少了测定的干扰。

火焰原子吸收光谱法尽管具有很多优点，但其最大缺点是原子化效率低，仅有约



10%的试液被雾化进入火焰，而约90%的试液由废液管排出，此外，基态原子被火焰气体大量稀释和在光路中停留时间过短，影响了灵敏度的进一步提高。近年来应用日益广泛的无焰原子吸收光谱法可克服上述缺点。

### 三、石墨炉原子吸收光谱法

石墨炉原子吸收光谱法是用石墨炉（管）作为原子化器，利用大电流通过高阻值的石墨炉时产生的高温，使待测元素形成基态原子，并吸收由光源发射的共振线的原子吸收光谱法。石墨炉原子化器见图2—1所示。

石墨管长为28mm，直径9mm，管内径4~6mm，试样从进样口注入，石墨管两端装有石英窗并用铜电极夹住，连接由温度控制器自动控制的电源，通电时，石墨管发热，温度可高达2000~3000°C，使待测元素原子化。光源产生的光束正好沿着石墨管的轴心通

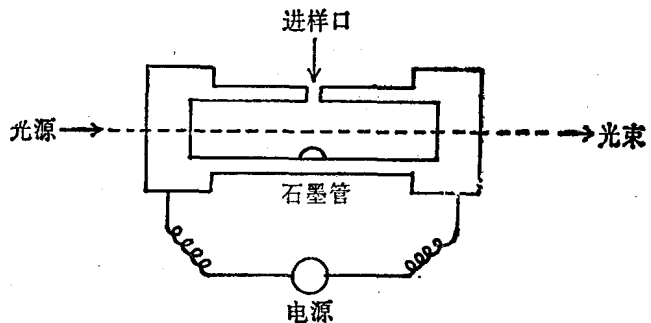


图2—1 石墨炉原子化器

过并部分被基态原子吸收。为了防止石墨管和试样被氧化，需不断通入氮气或氩气，并在铜电极周围用水冷却，使炉体温度不超过60°C。

石墨炉的升温程序一般分成干燥、灰化、原子化、清除四个步骤。第一步为干燥，将注入石墨炉的试样蒸干，通常在等于或稍高于溶剂沸点的温度（约100°C）下，经数秒到数十秒以除去水分；第二步灰化，将待测成分以外的共存物挥发或破坏，通常在低于原子化的某确定温度（100~1000°C）下，经数十秒使待测元素的盐类进行热分解，试样中的有机物进行灰化除去；第三步为原子化，通大电流数秒钟，在1000~3000°C的温度下进行原子化，同时记录吸收峰值；第四步为清除，将温度升到最高值（约3000°C），以除去残存在石墨炉中的基体残渣和待测成分，消除由此产生的记忆效应（前测组分对后测组分的影响）。

石墨炉原子吸收光谱法的优点是试样几乎可以完全原子化，特别对易于形成难熔氧化物的元素，由于没有大量氧存在，并由石墨提供大量的碳造成的强还原气氛，因此原子化效率高，灵敏度比火焰法高2~3个数量级，故取样量可减少，液体仅需5~100μl，固体为1~10mg，有些样品还可直接进样测定而不必经过前处理，特别适合血液等生物材料的痕量分析需要，可以预料，对含量低和样品量少的人体微量元素分析方面，其应用将会越来越广泛。但所需设备较昂贵；基体干扰较严重，常需加入基体改进剂，并用氘灯、塞曼效应、自吸效应等装置扣除背景；重现性较差，因取样量少，进样量及注入管内的位置变动都会导致偏差，变异系数常达5~10%。

### 四、氢化物发生原子吸收光谱法

某些元素在一定条件下能被还原成挥发性的共价氢化物，而与基体分离，然后用载气将氢化物带入吸收管道，经高温分解成基态原子后进行原子吸收光谱测定，这种方法称为氢化物发生原子吸收光谱法。自1969年Holak提出以来，已能用于砷、锑、铋、