

不借出

館存

J00478

63.858054
S34
J7C-1

防治职业病学习班讲义

(检验部分)



858054
34
J7C-1

沈阳市职业病防治院

1972·6

毛主席語录

领导我们事业的核心力量是中国共产党。

指导我们思想的理论基础是马克思列宁主义。

路线是个纲，纲举目张。

为什么人的问题，是一个根本的问题，原则的问题。

应当积极地预防和医治人民的疾病，推广人民的医药卫生事业。

中国医药学是一个伟大的宝库，应当努力发掘，加以提高。

前 言

在毛主席无产阶级医疗卫生路线的指引下，我市工业卫生和职业病防治工作正在深入开展，并取得一定成绩。

根据卫生局的指示，我院于今年春季举办了防治职业病学习班，以提高我市专业人员开展工业卫生和防治职业病的水平。学习班期间，我们试编了本地区常见职业病防治学习材料，现汇集成册，供我市工业卫生人员参考。

由于我们路线斗争觉悟低，学习差，经验少，这本材料定有错误和不足之处，恳望同志们批评指正。

沈阳市职业病防治院技术资料编写组

一九七二年六月

目 录

一、概论.....	(1)
二、有机物质的破坏方法.....	(5)
三、铅测定	
双硫脲比色法一.....	(8)
双硫脲比色法二.....	(9)
四、汞测定	
热蒸馏双硫脲比色法.....	(14)
冷消化双硫脲比色法.....	(15)
五、锰测定	
高锰测定(过硫酸铵氧化法).....	(18)
生物材料中锰的测定(高碘酸钾氧化法).....	(19)
六、尿中铬的测定.....	(21)
七、镉的测定	
二苯硫代偕肼脲定量测定法.....	(24)
二苯硫代偕肼脲测定法.....	(25)
八、铊测定.....	(28)
九、铍测定	
铍萘醌衍化物法定量测定.....	(30)
桑色素法尿铍测定.....	(31)
十、锌测定	
二苯硫代偕肼脲测定法.....	(32)
二苯硫代偕肼脲测定法.....	(34)
十一、镍测定(丁二肟法).....	(37)
十二、铜测定	
二苯硫代偕肼脲法.....	(40)

铜锌灵法.....	(42)
十三、砷测定	
氯化金色斑比较法.....	(44)
铂兰比色法.....	(46)
十四、砹测定	
尿中砹的定量测定.....	(49)
血砹的定量测定.....	(50)
十五、溴化物测定(氯化金定量法).....	(52)
十六、氟化物测定(扩散法).....	(54)
十七、硫氰化物测定	
血中硫氰化物比色测定.....	(57)
尿中硫氰化物比色测定.....	(58)
十八、氮氧化物测定	
血液中亚硝酸的测定.....	(60)
血液中硝酸阴离子的测定.....	(61)
十九、尿中二硫化碳测定.....	(63)
二十、无机磷测定.....	(64)
二十一、碱性、酸性磷酸酶测定.....	(66)
二十二、血液胆碱酯酶活性测定	
B·T·B法.....	(68)
羟肟酸铁比色法.....	(69)
二十三、尿中酚测定.....	(73)
二十四、尿中硫酸盐测定.....	(75)
二十五、尿中对氨基酚测定.....	(77)
二十六、葡萄糖醛酸测定	
1·3二羟基苯测定法.....	(78)
二羟基甲苯及氯化铁测定法.....	(79)
二十七、己内酰胺测定.....	(81)

二十八、三氯乙酸测定.....	(83)
二十九、尿中 δ -氨基乙酰丙酸测定 (简称 δ -ALA).....	(85)
三十、尿中棕色素测定	
荧光法.....	(87)
红环法.....	(87)
三十一、尿中棕色素同分异构体 (1 和 3) 定量测定.....	(88)
三十二、尿中棕色素纯晶提取法.....	(90)
三十三、血清粘蛋白测定法.....	(92)
三十四、高铁血红蛋白测定法.....	(94)
三十五、三硝基甲苯测定法.....	(98)
三十六、二硝基酚测定法	(100)
三十七、三硝基酚 (苦味酸) 测定法	(102)
三十八、尿中对硝基酚的比色测定	(103)
三十九、一氧化碳的测定	(105)
四十、尿中马尿酸含量的简易测定	(107)
四十一、血液象检查	
红细胞凝集检查法	(108)
网织红细胞检查	(109)
点彩红细胞检查	(111)
郝恩慈氏小体检查	(112)
四十二、附表	
常用酸碱之含量	(114)
常用指示剂配制	(114)

概 论

职业病检验主要着重生物化学分析，直接检查中毒病人体内毒害物质或检查引起中毒的生化改变，以此作为中毒的诊断治疗的指标。这类检验常称做毒物化学检验。随着职业病研究的深入，血细胞形态学的检查也逐渐被利用，红细胞嗜碱性物质的改变已用作诊断指标。此外一般常规检验用作病理改变的指征而被广泛地应用着。

用于职业病诊断的生物化学分析，包括生物材料中痕量元素如铅、汞、砷、氟和铍等的测定；生物材料中化合物的测定，如血清中硼烷的测定；生物体内某种成分改变的测定，如胆碱酯酶活力的测定，卟啉的测定；代谢产物的测定，如苯中毒病人尿中酚的测定等。从分析过程来看，这些生化分析可归纳为两大类：一是破坏生物材料，然后测定其中某一种无机成分，这种无机成分通常就是引起中毒的主要成分，在某些职业病诊断上提供直接的依据；二是不破坏生物材料，直接测定其中某种成分，所测定的成分可能是引起中毒的物质，也可能不是，常用作诊断的生化指标。

(一) 物质的相对毒性

物质的概念是唯物主义哲学的重要范畴。人类的生理过程、新陈代谢，离不开物质。物质在一定条件下能引起毒害作用——物质的相对毒性。

所谓毒物，包含着下列三个概念：

1、量的概念：各种物质遍布自然界，包括动物体内。在人类进化过程中通常各种物质的含量为人类正常生理过程、新陈代谢所必需。缺乏或超过正常需要就有可能引起毒害作用。离开了量的概念，就无所谓毒物，这就是正常值的理论基础。饮料食品中成分与正常值有着直接关系，从皮肤、呼吸及饮食进入身体的某一种物质的量，等于通过各种途径排出的量加上暂时或长期贮存于身体各部分的量。当某一种物质进入身体量超过通常水平时，就会发生量变到质变，引起中毒作用。

毒物是相对的，一定的毒物必须在适当量的条件下，才能发挥毒效引起中毒，通常人们把侵入人体的物质限定为50克以下引起机体损伤或致死作用者称为毒物。把小于5克和1克产生上述毒作用者分别称为高毒和剧毒。

2、物质结构概念：我们知道有机磷农药中毒或硼烷中毒，不能以测定尿中磷或硼的含量作为诊断指标。食物中就含有磷和硼，这种磷的化合物和硼的化合物与有机磷农药和硼烷的根本区别在于分子结构的不同。

最简单分子分三种类型，即离子型分子如氯化钠、极性分子如氟化氢和非极性分子如氟。极性分子和非极性分子合称共价键分子。

在有机化合物中往往会遇到异构体问题，即分子式相同，毒性不一样，如有机磷农药1059，有疏离异构体和硫连异构体，以小白鼠内服致死剂量来看，两者相差30倍这是

互变异构体(1059的这种性质,在不分解情况下使它的毒性渐渐增加)。互变异构体与位变异构体共称为结构异构体。此外,甚至平面结构式都一样的化合物,它们的生理作用也不相同,这叫做空间异构体,包括旋光异构体和几何异构体。

这个问题,在选择测定方法和评价测定结果时,是不能忽视的,随着现代工业的发展,毒物的种类也不断增加和变化,此问题更显重要。此外药物与毒物结合后,性质发生变化,这种变化有可能干扰某些测定。

3、变化、作用条件的概念:某种物质在外界环境中,在身体里会发生变化。例如氯硅烷在潮湿的空气中水解为氯化氢和硅化物或硅的高聚物。有机氟、苯之类在身体里参与各种生化过程,因此排出来的部分往往已不是原来的化合物了。

此外,溶解度也影响毒性。作用的部位不同,引起的反应也不同。

(二) 分 析 方 法

职业病检验的方法,要求具有正确、灵敏和简便的特点。随着分析化学中有机试剂的发展,逐渐采用有机试剂代替无机试剂。有机试剂可以通过增加或改变基团来提高它的选择性和灵敏度,因此使用前途很大。例如双硫腙可用于测定铅、汞、铊、铜、金、锌、铋、铟和银等。

很多方法在测定前除了有机物质的破坏外,还包括分离步骤。分离方法有萃取、离子交换等。

一、光度分析

光度分析在生化中应用最广,是测量被有色溶液吸收的光量为基础的分析方法。许多物质的溶液具有颜色,有些离子不具有颜色,当加入特殊试剂时,在一定条件下,使这些无色离子转变或生成有色化合物或络合物。有色物质溶液的浓度改变时,溶液颜色的深浅就随着改变,溶液越浓,颜色越深,其溶液颜色的深浅与被测物质浓度成正比关系,依此求出被测物质的含量。

比尔定律:光线通过有色液体时,光线的吸收与溶液中带色物质的浓度成正比,即所见颜色的深浅度与所含物质的浓度成正比。

1、颜色反应需要的条件

①高的灵敏度测定少量物质时,此点最为重要。为了达到足够高的灵敏度,颜色的再生性和稳定性在一定限度以内是可以牺牲的,测定一个小量成分时如误差在25%,还是比不能测定的好。极小量测定量时,准确度和灵敏度直接成比例。

②特效性或选择性,完全特效的试剂(仅与一种物质起反应)几乎是没有的,各种试剂与物质反应的灵敏度彼此都不相同,此种特性即试剂的选择性。准确一点说,应该说反应的特效性或选择性而不是试剂的特效性和选择性。例如二苯硫代胍脲几乎与十分之二的金属有反应,但是调解溶液PH值应用络合物生成剂时,则对很多金属有特效反应。选择性是一种有利的性质,在测定中可以节省时间,减少困难,但也不能因为某种试剂缺乏选择性就不加使用。

③颜色的再生性要好而且稳定。

④符合比尔定律。

2、有机试剂，微量物质的比色测定中，如果不用有机试剂是很困难的。很多有机化合物能与金属生成颜色很深的内部络合物，用于比色分析中很有成效，测定微量金属时更有特殊价值。有机试剂往往有很好的选择性，在适当条件下可成为特效反应。

很多有机化合物加入各种不同的“基”后，可以改变其溶解度及颜色等。很多金属有机络合物可被与水不混合的有机溶剂提取生成或深或浅的有色溶液，因此可利用作为微量物质的测定。用此种方法常可使微量金属与大量物质分离，有时按照有机溶剂的颜色进行测定。

有些有机试剂与金属组成荧光很强的络合物；有一部分可用有机溶剂提取。很多无机试剂同样可作为微量金属测定的灵敏而可靠的方法。例如：锰——高锰酸根，铬——铬酸根，钛——过氧化氢，钒——过氧化氢或磷钨酸，砷和其它金属——生成钼兰，铋和铅——用碘化物，金和碲——生成金属胶体溶液等等，均为无机试剂。

二、荧光分析

荧光是某些化合物在紫外线照射时所发出的特有颜色光线的一种。当物质在照射停止时发光立即停止为荧光；当物质在停止照射时仍能保持一定的发光时期为磷光。

紫外线照射发生的荧光，作用于各种不同物质而产生各种不同颜色的荧光。例如：作用于类色素和卟形成的化合物产生淡黄色的荧光；作用于锌和8-羟喹啉所形成的化合物发出黄绿色的荧光；作用于核黄素的水溶液产生金黄色的荧光；作用于奎宁水溶液产生天兰色的荧光；作用于尿中紫色质醚层则产生红色或砖红色的荧光等等。利用产生的荧光不同颜色可以鉴别各种不同的物质。

三、光谱分析具有比较简便、迅速、正确、灵敏的优点，用的试剂少因而大大避免了受试剂中杂质含量的限制，而且适合常规工作。例如测砷，用痕量的锡和金作内标，用初生硫共沉淀各种液体或生物产物中的砷，离心分离并干燥沉淀，放在石墨电极上光谱测定。测定的灵敏度，尿砷为0.5微克/25毫升，血砷为1微克/毫升。

(三) 测定结果的误差

在测定的过程中，同一试样，同一元素，同一方法以及同一个人先后测定几次，也很难得到完全相同的结果，就是说会发生这样或那样的误差，测量结果误差越小，分析结果越准确。

测定得到的结果和真值（标准值）的差数称为测量的误差。

产生误差是由于固定的原因并在全部测量中重复出现的误差。这种误差的主要来源是：（1）所用的仪器（天平、砝码、量具等）和使用的分析方法所引起的经常误差；（2）试剂不纯所引起的误差，如反应不能完全的定量的进行，沉淀的溶解度呈色反应中颜色的再生和稳定性等；（3）主观产生的误差，如对颜色的观察主观偏见，（4）在工作中已经知道前一测定的结果，常常是不自觉地使测量的结果尽量可能的与他接近，系统误差可以通过仪器的校准，使标准试剂，标准样品进行校验来消除。

偶然误差是由于偶然的原因所导致的误差，偶然误差产生的原因是：仪器偶然发生

故障，如砝码偶然缺陷，比色计光源灯泡接触不良等；测定时条件（温度、压力等）的变化；工作不细心，偶然的丢失或沾污等。一般测定的次数越多，偶然误差就越小。

误差的表示方法，化验室经常遇到的有两种：一种是绝对误差，一种是相对误差，其简单的数学式为：

$$\text{绝对误差} = O - T$$

$$\text{相对误差} = \frac{O - T}{T} \times 100$$

式中 O ——表示测定的结果

T ——表示标准结果

分析结果的误差虽然是不可避免的，但误差的大小可以通过改进方法，设计制造更精密的仪器，提高操作水平等减少到极小。但是，决定的因素是人而不是物，误差大小除与上述有密切关系外，更重要的是与操作人员的科学作风有很大关系，因此，操作人员必须提高思想认识，加强责任心树立起全心全意为人民服务的思想。

有机物质的破坏方法

有机物质的破坏方法很多，可归纳为两大类：干灰化和湿消化。现就一般实验室常用的几种方法分别简述如下：

一、干灰化

干灰化是以空气中氧作氧化剂，在相当高的温度（通常400—700°C）加热氧化样品，常常加化学试剂作灰化助剂采用弹内氧化技术时，充入氧气代替空气，以达到破坏有机物质的目的。

干灰化用于测定有机物质中大部分常见痕量金属，（通常不包括汞和砷）特别适用于处理大批样品材料时，它具有操作简便，加入试剂少（或不加），空白值较低等优点，但是，有些样品中的痕量元素在高温和容器的材料间的相互作用易造成挥发或损失。另外，彻底氧化需要较长时间等是其缺点。

干灰化方法又分不用灰化助剂和用灰化助剂两种，现扼要介绍几种常用的方法。

（一）不用灰化助剂灰化法：

正确称取适量的混合好了的样品，放坩埚中，先小火加热使其炭化；然后放入高温炉内在420—550°C灰化6—8小时至样品全部灰化为止。

本法适用于复合橡胶、胶布和许多固体食品之类的样品灰化，以测定除汞和砷以外的大部分普通痕量金属元素。其优点是需温度不太高，不必加试剂，约在550°C灰化时，其中锌、钴、镉、铬、钼、铈和铁的回收率是近于完全。而砷、铜、银和镉的回收率是低的，在450°C时铅的回收是近于完全的，到550°C时正是回收不完全的边缘，在650°C时铅的损失显著，采用此法预先需作回收率试验。

（二）用硝酸作灰化助剂灰化法：

样品经（一）法处理后，若仍氧化不完全，可待残留物冷却后加入硝酸湿润灰分，小火蒸干然后放高温熔炉中灰化2—4小时，如仍不彻底，则再重复加硝酸灰化，直至样品完全灰化为止。

加硝酸灰化很少影响回收率，并有助于得到干净的灰，灰分易溶于稀酸，但加硝酸会引起镉的显著挥发损失。另操作时要注意一定要在有机物质初步灰化好后再加硝酸，因为在太多的炭存在时加硝酸，炭燃烧会引起痕量元素严重损失。

（三）用硫酸作灰化助剂灰化法：

正确称取适量样品于坩埚中，先小火加热直到除去所有可挥发物质或易燃物质，冷却，沿皿壁加入硫酸（比重1.84），至足够湿润残留物，小心加热直到白色烟雾停止放出后，进一步强热得到干净的灰分。最后用几滴硫酸湿润，缓缓灼热，直至几乎所有的白烟都放出，但并不完全都放出，停止加热，避免强烈灼烧是为了尽可能保持灰分为硫

酸盐形式。

此法适用于含灰分较少的样品和类似复合橡胶的材料中，测定除汞和砷外的痕量金属元素。特别有利于对铅回收，甚至在 650°C 灰化也能近于完全。缺点是氧化速度慢。

(四) 用硝酸镁或醋酸镁作灰化助剂灰化法

正确称取一定量的样品于坩锅中，先小火加热炭化，然后用小量50%硝酸镁湿润，放入高温熔炉中 400°C 灰化，直至无炭残留为止（约需6—8小时）。

此法适用于蔗糖，糖浆和生物材料中，测定除汞和砷外的痕量金属元素，可以改进某些元素的回收率。但是，如果磷酸镁干扰下面分析步骤，则本法不适用。另加硝酸镁会引起镉的显著挥发损失。加醋酸镁迟缓氧化速度。

所用50%硝酸镁溶液必须没有痕量金属元素污染。提纯的方法：用百里酚兰作指示剂，用氨水调解PH到9.5，然后用0.01%双硫腙氯仿溶液分份萃取，最后一份萃取液应保持绿色。

二、湿消化

湿消化是基于各种酸的作用。硝酸、硫酸、过氯酸与有机物质相互作用，产生分解反应而生成新生态氧，从而把有机物质氧化成水、二氧化碳和其它无机物。

湿消化法可用于大部分有机物，以测定其中除汞外的一般痕量元素，本法所需温度较低（ $120-338^{\circ}\text{C}$ ），在液体条件下操作，痕量元素在器皿上的损失不易发生，所需仪器简单，氧化迅速快，易于控制。缺点是加大试剂量，有增加空白值的危险，消化取量大的样品困难并很费时间，有些样品，特别是含杂环氮的样品很难消化，甚至不能达到破坏有机物质的目的。

下面介绍一般实验室常用的三种方法：

(一) 用硝酸和硫酸消化：

取样品于凯氏烧瓶或三角烧瓶中，加入浓硝酸2—5毫升，缓缓加热直到剧烈反应停止冷却，慢慢加入浓硫酸4—8毫升，加热直至溶液刚变黑时，慢慢加入硝酸，每次1—2毫升再加热，直到再次变黑，再加硝酸，重复操作。彻底消化的标准是：最后溶液在加热时冒白烟，在冷却时无色，如果含有大量的铁的溶液出现淡黄色，有时含有粒状沉淀，在稀释时溶解。

本法广泛用于大部分有机物，快速、安全易控制，但不适用于破坏含碱土金属量显著的有机物质，因为碱土金属硫酸盐沉淀会吸附相当部分的痕量金属元素，特别是铅，另外用本法测定硒时结果偏低。

(二) 用硝酸、硫酸和过氯酸消化：

取样品于凯氏或三角烧瓶中，加硝酸5—10毫升，摇匀，待反应平息下来，加过氯酸4—8毫升，硫酸3—5毫升，放电炉上加热，有些有机物质，当大部分硝酸挥发失去后，可能进一步放出棕色气体时出现剧烈反应，再加入几毫升硝酸，继续加热，直至放出白烟，冷却，加水5毫升，再加热至白烟放出。

此法适用于许多有机物和生物材料（特别适用于氧化“顽固”的材料）但反应剧烈，

操作时应特别注意。

(三) 用硝酸、过氯酸消化

取样品于凯氏或三角烧瓶中，加硝酸 5—10 毫升，缓缓煮沸 30 分钟，冷却，加过氯酸 3—6 毫升，缓缓煮沸 1 小时直到溶液无色或接近无色并有浓白烟放出。

本法重要之点是不用硫酸，快速易控制，适用于破坏蛋白质和碳水化合物之类的材料，特别适用测铅，但在消化过程中必须注意防止煮干和爆炸。

(四) 用于测定汞的特殊消化法

汞在较低温度就能挥发损失，因此上列方法均不适用。常用者有回流消化法（用硫酸、硝酸、过氯酸于一回流冷凝器中进行消化）和冷消化法（加硫酸和过锰酸于室温中消化，但时间较长）。

铅 测 定

双硫脲比色法一

原 理:

尿液经过强酸消化后,在PH8.5—11.5范围内,以双硫脲氯仿提取铅——双硫脲的络合物,与已知铅的标准液进行比色测定其含铅量。

试 剂:

1、浓硫酸(分析纯)比重1.84。

2、浓硝酸(分析纯)比重1.42。

3、过氯酸(分析纯)60%以上。

4、氢氧化铵(分析纯)比重0.9。

5、麝香草酚兰指示剂:称取100毫克麝香草酚兰溶于100毫升乙醇中。

6、氯仿(分析纯)

7、碱性缓冲液:称取100克柠檬酸放于70毫升无铅水中,并加适量氢氧化铵(约100毫升)待冷。加氰化钾5克,亚硫酸钠3克溶解后加氢氧化铵至250毫升,此时用双硫脲氯仿液每次2毫升反复提取数次,直至双硫脲氯仿溶液内无红色,而保持原先绿色或混合色为止,表示溶液内微量铅已被除去,再用氯仿洗去溶液内残留之双硫脲,至氯仿内无绿色,而透明为止,再加氢氧化铵500毫升充分混合。

8、双硫脲氯仿液:取100毫克双硫脲于100毫升容量瓶中,加氯仿至刻度为原液。(保存于冰箱中)应用时取原液3毫升加氯仿至100毫升。(用时现配,或配成绿色滤光板透光率35—36%)

9、洗液:于500毫升无铅水中加入10%氰化钾5毫升和氢氧化铵30毫升。(10%氰化钾需先配成50%按缓冲液提铅方法提取铅,然后稀释成10%氰化钾方可应用)

10、铅标准液:(1毫升=0.1毫克)

将纯净硝酸铅 $[Pb(NO_3)_2]$ 于干燥器内干燥,称取0.16克放于1升容量瓶中加水少许和10毫升硝酸,用水加至1000毫升。

应用液:(1毫升=0.01毫克)

取上液10毫升加入100毫升容量瓶中加硝酸1毫升,加水至100毫升即可。

操作步骤:

1、取尿50毫升放入凯氏烧瓶中,加硝酸10毫升,硫酸3毫升,置火焰上加热消

化，彻底破坏尿内的有机物质，待瓶内有大量白色烟雾（SO₃）放出后，其残留液约为1—2毫升，待冷后再加过氯酸1毫升加热30分钟至无色透明即可。

2、将烧瓶离开火焰稍冷，加无铅水40毫升，硷性缓冲液30毫升，混匀呈硷性PH值约为9—11。如测其PH，可滴加麝香草酚兰指示剂1—2滴，呈兰色即表示PH9—11。

3、待冷后准确加入双硫脲氯仿液10毫升，用力提取振摇1分钟。如氯仿层呈红色，可再加10毫升提取至氯仿层绿色稍变为止，倒入分液漏斗中。

4、待氯仿层分清后，将氯仿层放于凯氏烧瓶内，加洗涤液20—30毫升，振摇以除去过量之双硫脲，使氯仿层呈现铅与双硫脲的单纯粉红色。一般洗两次即可。将氯仿层用棉花过滤于试管内进行比色。用绿色（500毫微米）滤光板进行比色。

计 算：

$$\text{铅含量毫克/升} = \frac{U - B}{S - B} \times 0.01 \text{毫克} \times \frac{1000 \text{毫升}}{50 \text{毫升}}$$

注：S—标准管

B—空白管

U—样品管

作样品同时，另取两个凯氏烧瓶分别标记S、B，S瓶加标准液1毫升。然后B与S瓶均与样品同样操作。

有关实验技术：

1、应用一切试剂均应在可能范围内选择分析试剂，设法除去铅质。

2、所用之玻璃等器材最好为硬质。应用3%硝酸（V/V）浸泡去铅质。

3、有机物质的彻底破坏很重要，如破坏不完全，或者消化后，残留液过多（超过2毫升）影响结果。

4、血铅及其他生物材料的铅测定法：静脉采血5毫升左右（其他材料的组织块、毛发等）称重，加硝酸15毫升，硫酸3毫升，于凯氏瓶中进行消化，其余步骤与尿铅完全相同。

结果报告：血铅同组织块一般是100克中的含铅的毫克量。

$$\text{血铅} = \frac{\text{样品} - \text{空白}}{\text{标准} - \text{空白}} \times 0.01 \times \frac{100}{\text{血克数}} = \text{mg\%}$$

双硫脲比色法二

原 理：

尿液经强酸消化，在除常见干扰及PH8.5—11.5的范围内，以双硫脲氯仿提取铅，然后用碱性氰化钾溶液除去氯仿中过量的双硫脲，与已知铅的标准液进行比色，测定其

含铅量。

试 剂:

(1) 混合酸: 浓硫酸(分析纯, 比重1.84) 2 体积, 浓硝酸(分析纯, 比重1.42) 5 体积混合。

(2) 酚红指示剂: 酚红0.1克加氨水(二级) 数滴帮助溶解, 用蒸馏水稀释至250 毫升。

(3) 双硫脲氯仿溶液: 取经过提纯的双硫脲, 以氯仿稀释至透光率42% (490 微米波长) 避光保存可使用 1—2 日。

(4) 柠檬酸铵液: 柠檬酸铵750克溶于少量蒸馏水中, 加酚红指示剂75毫升, 滴加氨水至溶液呈红色, 用蒸馏水稀释至1500毫升然后进行除铅(方法见附一)。

(5) 10% 氰化钾溶液(一级) 50克, 溶于蒸馏水100毫升中, 除铅后, 再用蒸馏水稀释至500毫升。(试剂除铅方法见附一)。

(6) 20% 盐酸羟胺溶液: 盐酸羟胺(二级) 20克加蒸馏水至100毫升。

(7) 除干扰混合液: 柠檬酸铵溶液15体积, 10% 氰化钾溶液5体积, 20% 盐酸羟胺溶液 1 体积混合。

(8) 洗涤液: 10% 氰化钾 5 毫升, 浓氨水30毫升, 用蒸馏水稀释至500毫升。

(9) 铅标准溶液:

①贮备液(1 毫克/毫升): 硝酸铅(经重结晶, 干燥器干燥) 1.598克, 加硝酸 10 毫升及少量蒸馏水溶解, 然后用蒸馏水稀释至1000毫升。

②应用液(0.01 毫克/毫升): 贮备液10毫升, 用蒸馏水稀释至1000毫升。

仪 器:

(1) 分光光度计

(2) 带盖三角烧瓶

(3) 电热板

操作步骤:

(1) 消化:

取充分混匀的24小时混合尿15毫升于三角烧瓶中, 加混合酸 3 毫升, 置于电热板上加热至冒白烟时, 再加硝酸0.5毫升重复此步骤直到样品无色透明 (若不透明可补加 1 滴过氯酸), 最后再持续加热约10分钟。

(2) 提取:

将消化好的样品放冷至室温, 加入蒸馏水10毫升, 除干扰混合液1.5毫升, 滴加氨水至溶液变红, 再加入氨水 2 滴, 加双硫脲氯仿 3 毫升, 振摇 1 分钟, 此时若氯仿层为

樱红色，应补加一定体积的双硫脲氯仿液，直到在振摇时氯仿层带有樱红和绿色之间的颜色，记下双硫脲氯仿溶液的毫升数，将上层溶液吸出。在剩下的氯仿层中加入洗涤液15毫升除去过量的双硫脲，振摇15秒钟（若氯仿层仍带有绿色应再洗一次，使氯仿层为无绿色呈单纯的樱红色）将上层水溶液吸出，氯仿层用脱脂棉过滤到小比色杯中进行比色。

（3）标准曲线的制备：

取三角烧瓶六个，分别加入铅标准应用液0、0.05、0.10、0.20、0.30、0.40毫升，各加入蒸馏水至总体积10毫升，再分别加入除干扰混合液1.5毫升，双硫脲氯仿3毫升振摇1分钟，将上层水液吸出，在氯仿层中加入洗涤液15毫升，振摇15秒钟，将上层水液吸出，氯仿层分别用脱脂棉过滤于比色杯中进行比色（用500毫微米波长，0.5厘米厚的比色杯）读取光密度，制成曲线（不得少于五次，取其均值制成标准曲线）。

结果计算：

$$\text{公式：尿铅（毫克/升）} = \gamma \times \frac{V_1}{3V}$$

公式中 γ = 从标准曲线中查得的铅微克数

V_1 = 样品中双硫脲溶液体积（毫升）

V = 尿样品体积（毫升）

其他生物材料的铅测定：

- 1、取样量：视其材料的含铅量而定（如血或组织块1—2克，毛发0.5—1克）。
- 2、操作步骤：与尿相同。
- 3、计算：血、组织块或毛发的铅含量（毫克/100克）

$$= \text{曲线表查得毫克数} \times \frac{100}{\text{取样量（克）}}$$

若操作中多加双硫脲时，则得数乘以 $\frac{\text{双硫脲总量（毫升）}}{3}$

注意事项：

- 1、双硫脲需要提纯（方法见附二）。
- 2、50%柠檬酸铵溶液及10%氰化钾溶液都需除铅即柠檬酸铵溶液或氰化钾溶液（配制中第一步骤溶解时）加入双硫脲氯仿（约20毫克/升，或透光率为42%）约150:2萃取，可萃取数次至氯仿层呈绿色为止。余留在溶液中的少量双硫脲可用氯仿洗去。
- 3、所用玻璃器材均要用8%硝酸浸泡四小时以上，流水冲洗后蒸馏水冲三遍，烘干。
- 4、比色时应在漫射光下进行，因为明亮的阳光对双硫脲及其盐有破坏倾向。