

中华人民共和国卫生行业标准

尿中对硝基酚的分光光度测定方法

WS/T 57—1996

Urine—Determination of 4-nitrophenol

—Spectrophotometric method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中对硝基酚的分光光度测定方法。本法最低检测浓度为 0.2 mg/L。

本标准适用于接触硝基苯类化合物工人尿中对硝基酚含量的测定。

2 原理

尿中对硝基酚以游离形式或与葡萄糖醛酸、硫酸等结合存在,尿样经水解后,结合的对硝基酚转化为游离形式,用有机溶剂萃取对硝基酚,再反萃取至氨水中,用三氯化钛将对硝基酚还原成对氨基酚,与邻甲酚作用,生成靛酚蓝,于波长 620 nm 处比色定量。

3 仪器

3.1 分光光度计,20 mm 比色杯。

3.2 比色管,25 mL,10mL,具磨口塞。

3.3 水浴锅,100℃。

3.4 分液漏斗,100 mL。

3.5 聚乙烯塑料瓶,50 mL 以上。

3.6 尿比重计。

4 试剂

本标准所用试剂除另有说明外,均为分析纯试剂。

4.1 实验用水,蒸馏水或具有同等纯度的去离子水。

4.2 盐酸, $\rho_{20}=1.19$ g/mL。

4.3 氨水,3 mol/L。取浓氨水 50 mL 加水稀释至 250 mL。

4.4 有机溶剂萃取液:1%(V/V)异戊醇溶液(溶剂为 4+1 石油醚和乙醚的混合物)。

4.5 邻甲酚溶液,20 g/L,称取邻甲酚 2 g,溶于 100 mL 0.2 mol/L 氢氧化钠中。

4.6 三氯化钛溶液:取 150~200 g/L 的三氯化钛溶液 1 mL,加蒸馏水至 8 mL,临用前配制。

4.7 对硝基酚标准溶液:称取 0.1000 g 对硝基酚置于小烧杯中,用氨水(4.3)溶解,转移至 100 mL 容量瓶中,加氨水(4.3)至刻度,此液 1 mL 相当于 1 mg 对硝基酚,为贮备液,取此液用氨水(4.3)稀释成 1 mL 相当于 10 μ g 对硝基酚的应用液。

4.8 质控样:用加标的模拟尿、接触者混合尿或加标的正常人混合尿作质控样。

5 采样、运输和保存

用聚乙烯瓶采集接触者班后尿样 50 mL 以上。每 100 mL 加 3 滴甲醛,或将尿样置于 4℃ 冰箱中可

WS/T 57—1996

保存三天。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 吸取已经测定比重的尿样 5.0 mL 于 25mL 比色管中,加 5 mL 水,再加 2 mL 盐酸(4.2)混匀,加盖,置于沸水浴中加热 1 h(加热不久,应松开盖 1~2 次),放冷至室温。

6.1.2 将样液倒入 100 mL 分液漏斗中,加入 25 mL 有机萃取液,置于振荡器上强烈振摇 10 min,静置分层,去掉水层。有机层用 5.0 mL 氨水(4.3)强烈振摇 3 min,静置分层,将氨水层放入干燥的比色管中。

6.2 标准曲线的绘制

6.2.1 取 6 个比色管,按下表配制标准管。

对硝基酚标准管的配制

管 号	0	1	2	3	4	5	6
标准应用液(4.7),mL	0	0.1	0.2	0.6	1.0	1.5	2.0
水,mL	10.0	9.0	9.8	9.4	9.0	8.5	8.0
对硝基酚含量,μg	0	1	2	6	10	15	20

各管加 2 mL 盐酸(4.2),混匀,加盖,于沸水浴中加热 1 h,放冷。

6.2.2 按 6.1.2 继续操作。

6.2.3 于比色管中加入 1.0 mL 邻甲酚溶液(4.5)混匀,再加入 1 mL 三氯化钛溶液(4.6),立即振摇至黄色沉淀变成淡黄色沉淀为止,将显色液用滤纸过滤于 10 mL 比色管中,30 min 后,以试剂空白为参比,于 620 nm 处,用 20 mm 比色杯比色定量。

6.2.4 以对硝基酚含量为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

6.3 样品测定

将 6.1.2 条制备的氨水层样品溶液,按 6.2.3 条操作,测量吸光度,在标准曲线上查出样品溶液中对硝基酚含量。在测定前后以及每测定 10 个样品后,测定一次质控样。

7 计算

7.1 按式(1)计算尿样换算成标准比重(1.020)下的浓度校正系数(k)。

$$k = \frac{1.020 - 1.000}{\text{实测比重} - 1.000} \quad \dots\dots\dots(1)$$

7.2 按式(2)计算尿中对硝基酚的浓度。

$$X = \frac{m}{V} \times k \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中: X ——尿中对硝基酚浓度,mg/L;

m ——由标准曲线上查出的对硝基酚含量,μg;

V ——分析时所取尿样体积,mL。

8 说明

8.1 本法的最低检测浓度为 0.2 mg/L;测定范围 1~20 μg;精密度: $CV=3.1\% \sim 9.7\%$ (尿中对硝基酚浓度 0.4,1.2,2.0 mg/L, $n=6$),准确度,尿样加标回收率=92.2%~96.0%(加标量 6.0~10 μg)。

8.2 采集接触者的班后尿样,采尿样时要脱离现场环境,换工作服,洗手,以防止现场的对硝基酚污染。

WS/T 57—1996

- 8.3 加三氯化钛溶液以后,一定要振摇至黄色沉淀变成浅黄色沉淀为止,显色后的溶液用滤纸过滤后,于 3 mol/L 的碱度条件下,30 min 就可显色完全,颜色在 120 min 内保持稳定。
- 8.4 不含对硝基酚的尿样,当比重在 1.012~1.025 之间时,尿样本身空白值对测定结果的影响可忽略不计。
- 8.5 尿样应采集接触者班后的尿样,尿样置 4℃ 冰箱或加甲醛保存可稳定三天。
- 8.6 质控样如使用加标的模拟尿时可考察准确度和精密度。使用接触者尿或加标的正常尿时可考察精密度。但人尿不易久存,模拟尿只含人尿的大量成分。

附加说明:

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由广东省职业病防治院负责起草。

本标准主要起草人叶能权、黄振依。

本标准由卫生部委托技术归口单位中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所负责解释。