

中华人民共和国卫生行业标准

尿中杀虫脒及对氯邻甲苯胺的 分光光度测定方法

WS/T 65—1996

Urine—Determination of chlor dimeform and
4-chloro-*o*-toluidine—Spectrophotometric method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中杀虫脒及对氯邻甲苯胺的分光光度测定方法。本法最低检测浓度为杀虫脒 0.039 mg/L, 对氯邻甲苯胺 0.042 mg/L。

本标准适用于接触杀虫脒工人尿中杀虫脒和对氯邻甲苯胺含量的测定。

2 原理

尿中杀虫脒及对氯邻甲苯胺在碱性条件下用石油醚萃取, 然后用盐酸溶液从有机相中反萃取, 将酸萃取液中和后, 经重氮化、偶合生成紫红色染料, 在 552 nm 波长下比色定量, 分别计算杀虫脒和对氯邻甲苯胺含量。

3 仪器

- 3.1 分光光度计, 10 mm 比色杯。
- 3.2 具塞试管, 10 mL。
- 3.3 分液漏斗, 250 mL, 150 mL。
- 3.4 恒温水浴箱。
- 3.5 聚乙烯塑料瓶, 500 mL。
- 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。

- 4.1 实验用水, 蒸馏水或具同等纯度的去离子水。
- 4.2 盐酸, $\rho_{20}=1.19$ g/mL。
- 4.3 杀虫脒。
- 4.4 对氯邻甲苯胺。
- 4.5 石油醚, 沸程 60~90℃。
- 4.6 盐酸溶液, 1 mol/L。
- 4.7 氢氧化钠溶液, 2.5 mol/L。
- 4.8 饱和氯化钠溶液。
- 4.9 酚酞溶液, 10 g/L。
- 4.10 盐酸乙醇溶液, 取 90 mL 盐酸(4.2), 加水稀释至 300 mL, 加 95% 乙醇至 1 000 mL。

WS/T 65—1996

- 4.11 亚硝酸钠溶液, 40 g/L。
- 4.12 氨基磺酸铵溶液, 30 g/L。
- 4.13 盐酸萘乙二胺盐酸盐溶液, 10 g/L。
- 4.14 杀虫脒(或对氯邻甲苯胺)标准溶液: 称取 0.1000 g 杀虫脒(4.3)或对氯邻甲苯胺(4.4), 加 10 mL 盐酸溶液(4.5)溶解, 定量移入 100 mL 容量瓶内, 用水稀释至刻度。此溶液 1 mL 相当于 1.0 mg 杀虫脒或对氯邻甲苯胺。临用前, 用水稀释成 1 mL 相当于 10 μ g 杀虫脒或对氯邻甲苯胺的标准应用溶液。
- 4.15 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

用聚氯乙烯瓶收集接触杀虫脒后的次日晨尿至少 200 mL, 尽快测定比重后, 每 100 mL 尿样加入 1 mL 盐酸(4.2), 于 4℃ 冰箱内存放, 至少可保存两周。分析前要将尿样彻底摇匀。

6 分析步骤

6.1 样品处理

取 100 mL 尿样于分液漏斗中, 加 5 mL 氢氧化钠溶液(4.7), 摇匀, 加 30 mL 石油醚(4.5), 轻轻摇 2 min, 静置分层后, 弃去尿液, 加 15 mL 饱和氯化钠溶液洗涤石油醚层, 洗至醚层无尿色为止, 将醚层移入 150 mL 分液漏斗中, 用盐酸溶液(4.6)萃取醚层 3 次, 每次 2 mL, 振摇 1 min, 静置分层后, 收集盐酸溶液层于同一支具塞试管中, 加 1 滴酚酞溶液, 用氢氧化钠溶液(4.7)调至红色, 再用盐酸溶液(4.6)调至无色, 加水至 10 mL, 混匀, 为样品萃取液。

6.2 标准曲线的绘制

6.2.1 杀虫脒标准曲线的制备: 取 6 支具塞试管, 按表 1 配制标准管。

表 1 杀虫脒标准管的配制

管 号	0	1	2	3	4	5
标准应用液(4.14), mL	0	0.10	0.50	1.00	1.50	2.00
水, mL	2.50	2.40	2.00	1.50	1.00	0.50
杀虫脒的含量, μ g	0	1.0	5.0	10.0	15.0	20.0

6.2.1.1 每管中各加入 0.5 mL 氢氧化钠溶液(4.7), 摇匀, 盖上塞子, 在高于 90℃ 水浴中加热 30 min, 取出冷却, 加入 2.5 mL 盐酸乙醇溶液(4.10), 混匀, 放冷。

6.2.1.2 各管中分别加入 0.1 mL 亚硝酸钠溶液, 摇匀, 放置 5 min, 加入 1 mL 氨基磺酸铵溶液, 剧烈振摇 1 min, 放置 20 min, 加入 1 mL 盐酸萘乙二胺盐酸盐溶液, 摇匀, 于室温放置 30 min, 于 552 nm 波长下, 以试剂空白为参比(0 号管), 测量各管吸光度, 以杀虫脒含量为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。

6.2.2 对氯邻甲苯胺标准曲线的制备: 取 6 支具塞试管, 按表 2 配制标准管。

表 2 对氯邻甲苯胺标准管的配制

管 号	0	1	2	3	4	5
标准应用液(4.14), mL	0	0.10	0.50	1.00	1.50	2.00
水, mL	2.50	2.40	2.00	1.50	1.00	0.50
对氯邻甲苯胺的含量, μ g	0	1.0	5.0	10.0	15.0	20.0

6.2.2.1 各管中分别加入 0.5 mL 氢氧化钠溶液(4.7), 立即再加入 2.5 mL 盐酸乙醇溶液, 混匀。

WS/T 65—1996

6.2.2.2 以下按 6.2.1.2 条操作,测量各管吸光度,以对氯邻甲苯胺含量为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线。

6.3 样品测定

6.3.1 取二支具塞试管,分别标明 S_1 和 S_2 ,然后各加入经 6.1 条处理的样品萃取液 2.5 mL。

6.3.2 以下 S_2 按 6.2.2.1 和 6.2.2.2 条操作,测量吸光度 A_{S_2} ,从对氯邻甲苯胺标准曲线上查出样品中对氯邻甲苯胺的含量。

6.3.3 以下 S_1 按 6.2.1.1 和 6.2.1.2 条操作,测量吸光度 A_{S_1} 。由 A_{S_1} 减去 A_{S_2} (6.3.1),用所得差值从杀虫脒标准曲线上查出样品中杀虫脒的含量。

6.3.4 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)计算尿中杀虫脒或对氯邻甲苯胺的浓度。

$$X = \frac{m_1(\text{或 } m_2) \times 4}{V} \cdot k \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中: X ——尿中杀虫脒(或对氯邻甲苯胺)的浓度,mg/L;

m_1 ——由杀虫脒标准曲线查得的杀虫脒含量, μg ;

m_2 ——由对氯邻甲苯胺标准曲线查得的对氯邻甲苯胺的含量, μg ;

V ——取尿样体积,mL。

8 说明

8.1 本法的检测限杀虫脒为 0.039 mg/L,对氯邻甲苯胺为 0.042 mg/L。测定范围:杀虫脒和对氯邻甲苯胺均为 0~20.0 μg 。精密度:CV=2.5%~11.1%(杀虫脒含量 1.0~20.0 μg)。加标回收率杀虫脒为 91%~94%(尿中杀虫脒浓度为 0.10~1.00 mg/L)。对氯邻甲苯胺为 76%~80%(尿中对氯邻甲苯胺浓度为 0.80~1.60 mg/L)。

8.2 接触杀虫脒之后尿中杀虫脒排泄量随时间的延长而增加,于 8~14 h 达最高值,故最好采集晨尿。

8.3 本反应是芳胺类化合物的特异反应,苯胺、硝基苯等化合物的接触者尿中都可能出现这类化合物,所以收集尿样时必须询问是否接触或服用过该类药物,以免发生错误。

8.4 质控样用加标的模拟尿时可考察准确度和精密度。用接触者尿和加标的正常人尿时可考察精密度,但人尿不易久存。模拟尿只含人尿中的大量成分。

附加说明:

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由湖北省卫生防疫站负责起草。

本标准主要起草人梁禄、付正芬。

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。