

尿中 δ -氨基乙酰丙酸的分光光度法

WS / T 23—1996

1 原理 尿中 δ -氨基乙酰丙酸(δ -ALA)与乙酰乙酸乙酯缩合成吡咯化合物。此化合物可被乙酸乙酯萃取,并与对-二甲氨基苯甲醛反应生成红色化合物。在波长554nm处比色定量。

2 仪器

- 2.1 聚乙烯塑料瓶。
- 2.2 尿比重计。
- 2.3 具塞比色管, 10ml。
- 2.4 离心机。
- 2.5 分光光度计。

3 试剂 实验用水为蒸馏水。

- 3.1 冰乙酸。
- 3.2 高氯酸。
- 3.3 无水乙酸钠。
- 3.4 对-二甲氨基苯甲醛。
- 3.5 乙酰乙酸乙酯。
- 3.6 乙酸乙酯。

3.7 缓冲溶液(pH=4.6): 于700ml水中加入57ml冰乙酸, 82g无水乙酸钠, 溶解后加水至1000ml。

3.8 显色剂: 于50ml量筒中依次加入30ml冰乙酸、1g对-二甲氨基苯甲醛、5ml高氯酸和5ml水, 溶解后用冰乙酸稀释至50mL, 混匀。倒入试剂瓶内, 置于冰箱中保存。

3.9 δ -ALA标准溶液: 称取0.01280g δ -ALA盐酸盐, 用水溶解后, 定量移入100ml容量瓶中, 并稀释至刻度。此溶液为0.10mg/ml δ -ALA。再用水稀释成10 μ g/ml δ -ALA的标准溶液。

4 样品的采集、运输和保存 用聚乙烯塑料瓶收集铅作业工人尿样50ml, 尽快测量比重后, 冷藏运输, 置于4℃冰箱可保存2周。

5 分析步骤

5.1 样品处理: 于2支具塞比色管中, 各加入1ml尿样和1ml水, 再加入2ml缓冲溶液, 混匀, 分别为样品管和空白管。向样品管中加入0.4ml乙酰乙酸乙酯, 空白管中加入0.4ml缓冲溶液, 充分摇匀, 供测定。

5.2 标准曲线的绘制: 取6支具塞比色管, 分别加入0、0.10、0.30、0.50、0.70、1.0ml δ -ALA标准溶液, 各加水至2.00ml, 各加入2.0ml缓冲溶液和0.4ml乙酰乙酸乙酯, 配制成0、1.0、3.0、5.0、7.0、10.0 μ g δ -ALA标准系列。混匀各管, 于沸水浴中加热12min, 取出冷却至室温。各加入4ml乙酸乙酯, 加塞振摇100次, 离心5min, 静置分层。分别取出2ml乙酸乙酯层, 置于另6支具塞比色管中, 各加入2ml显色剂, 混匀, 静置10min。在554nm波长处, 用10mm比色杯, 以第1管为参比, 测量吸光度。以吸光度为纵坐标, δ -ALA的含量为横坐标, 绘制标准曲线。

5.3 样品测定: 用测定标准系列的操作条件测定样品管和尿空白管。从样品管的吸光度值减去尿空白管的吸光度值, 由标准曲线得样品中 δ -ALA的含量。

6 计算 按式(1)计算尿中 δ -ALA的校正浓度:

$$C = \frac{m}{V} \times k \quad (1)$$

式中：C—尿中 δ -ALA的校正浓度， $\mu\text{g/L}$ ；m—由标准曲线得出的 δ -ALA的含量， μg ；V—分析时所取尿样的体积，ml；k—成标准比重下的浓度校正系数。

7 说明

7.1 本法的最低检测浓度为 0.15mg/L （按取 1ml 尿样计）；测定范围为 $0.15\sim 10\text{mg/L}$ ；相对标准偏差为 $1.5\%\sim 3.6\%$ ；铅接触者的尿样加标回收率在 $89.0\%\sim 95.7\%$ （加标量 $1.0、3.0、5.0\text{mg/L}$ ， $n=6$ ）。

7.2 尿样采集时间不严格。采样时不存在污染问题。尿样于 4°C 存两周。

7.3 尿中无机盐太多发生沉淀时，可离心后，取上清液测定。显色反应后，颜色可稳定 1h 。当尿中 δ -ALA浓度高，颜色深时，可减少取样量。乙酰乙酸乙酯如变黄，即不能再用，显色剂溶液最好是新配制的。

7.4 本法由山东省劳动卫生职业病防治研究所戴秀莲等同志研制。