

中华人民共和国卫生行业标准

尿中对氨基酚的分光光度测定方法

WS/T 55—1996

Urine—Determination of 4-aminophenol— Spectrophotometric method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中对氨基酚的分光光度测定方法。本法最低检测浓度为 0.5 mg/L。
本标准适用于接触苯胺类工人尿中对氨基酚浓度的测定。

2 原理

尿样加盐酸水解后,于中性溶液中,用乙酸乙酯萃取对氨基酚,再酸化反萃取至盐酸溶液中,经重氮化后,用盐酸萘乙二胺法显色。于波长 582 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,10 mL,具磨口塞。
- 3.3 分液漏斗,100 mL。
- 3.4 恒温水浴锅。
- 3.5 电动振荡器。
- 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,蒸馏水或具同等纯度的去离子水。
- 4.2 乙酸乙酯。
- 4.3 盐酸溶液,1.0 mol/L。
- 4.4 盐酸溶液,0.1 mol/L。
- 4.5 磷酸二氢钾溶液,0.067 mol/L。
- 4.6 磷酸氢二钠溶液,0.067 mol/L。
- 4.7 磷酸盐缓冲液,pH=7.3,取 2 份磷酸二氢钾溶液(4.5)和 8 份磷酸氢二钠溶液(4.6)混合。
- 4.8 亚硝酸钠溶液,10 g/L,临用时配制。
- 4.9 氨基磺酸铵溶液,20 g/L。
- 4.10 盐酸萘乙二胺溶液,10 g/L,于冰箱中保存可稳定一周。
- 4.11 对氨基酚标准溶液
- 4.11.1 贮备液:称取 0.100 0 g 对氨基酚置于小烧杯中,用盐酸溶液(4.4)使之溶解,并转移至 1 000 mL 容量瓶中,加盐酸溶液(4.4)至刻度,此液 1 mL 相当于 100 μ g 对氨基酚。

WS/T 55—1996

4.11.2 应用液:临用时取贮备液用盐酸溶液(4.4)稀释成 $20\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准应用液。

4.12 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 100 mL 玻璃瓶收集接触者班后尿样,常温下带回实验室,测比重后于 4C 可保存三天。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 取测量比重后的尿样 2.0 mL,于 10 mL 比色管中,加 0.5 mL 盐酸溶液(4.3),于沸水浴中加热水解 1 h,放冷。

6.1.2 用 $0.1\ \text{mol/L}$ 的氢氧化钠溶液调至中性,然后加磷酸盐缓冲液(4.7)2 mL,再转移至 100 mL 分液漏斗中,加 20 mL 乙酸乙酯,于康氏振荡器上强烈振摇萃取 20 min,静置分层,取有机相用 5 mL 盐酸溶液(4.4)反萃取 10 min,弃去有机相。将酸性水相移入 10 mL 比色管中。

6.2 标准曲线的绘制

6.2.1 取 6 支比色管,按下表配制标准管。

对氨基酚标准管的配制

管 号	0	1	2	3	4	5
标准应用液(4.11.2),mL	0	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25
非接触者尿,mL	2	2	2	2	2	2
盐酸溶液(4.3),mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
对氨基酚含量, μg	0	5	10	15	20	25

6.2.2 各管放沸水浴中煮沸 1 h,放冷。

6.2.3 按 6.1.2 条继续操作。

6.2.4 加入 0.4 mL 亚硝酸钠溶液(4.8),摇匀,静置 10 min,加 0.4 mL 氨基磺酸铵溶液(4.9)充分振摇至无气泡发生为止,放置 10 min,加 3 mL 盐酸萘乙二胺溶液(4.10),加水至刻度,混匀,于 60C 水浴中保温 1 h,取出放冷至室温,于波长 582 nm 处,20 mm 比色杯以尿空白管为参比,测量吸光度。

6.2.5 以对氨基酚含量为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

6.3 样品测定

取 6.1.2 条制备的酸性萃取样品溶液,按 6.2.4 条操作,测量吸光度,在标准曲线上查出样品中对氨基酚含量。在测定前后及每测定 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)计算尿中对氨基酚的浓度。

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

式中: X ——尿中对氨基酚的浓度, mg/L ;

m ——由标准曲线上查出的对氨基酚含量, 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,取 2 mL 尿样时为 0.5 mg/L;测定范围 5~25 μg ;精密度: $CV=2.4\%\sim 5.1\%$ (尿中对氨基酚浓度 2.5~12.5 mg/L, $n=6$)。准确度:尿样加标回收率=99.2%~102.6%(加标量为 5.0~15.0 μg)。
- 8.2 采集接触者的班后尿样。采尿样时要脱离现场环境,换下工作服,洗手,以防污染对测定产生影响。在采集尿样前对是否服用磺胺类药物进行记录。
- 8.3 对氨基酚的氨基重氮化后与盐酸萘乙二胺显色的深度与酸度有关,因此,酸度应控制在 0.05 mol/L 为宜。
- 8.4 由于对氨基酚的氨基受羟基的影响,与亚硝酸钠作用后,与盐酸萘乙二胺在常温下显色较慢而不稳定。本方法选择在 60℃ 水浴保温 1 h 立即比色,颜色在 30 min 内保持稳定。
- 8.5 尿样采集后最好当天分析完毕,或于玻璃瓶中在 4℃ 的冰箱中可保存三天。
- 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。如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。模拟尿只含人尿中主要成分。

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。