

中华人民共和国卫生行业标准

尿中马尿酸的分光光度测定方法

WS/T 52—1996

Urine—Determination of hippuric acid
—Spectrophotometric method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中马尿酸的分光光度测定方法。本法最低检测浓度为 0.006 g/L。
本标准适用于正常人和接触甲苯工人尿中马尿酸的测定。

2 原理

尿中马尿酸在喹啉存在下与苯磺酰氯反应生成黄色化合物,在乙醇溶液中于 470 nm 下比色定量。

3 仪器

- 3.1 分光光度计,10 mm 比色杯。
- 3.2 旋涡混合器。
- 3.3 具塞比色管,10 mL。
- 3.4 容量瓶,100 mL,50 mL。
- 3.5 聚乙烯塑料瓶或玻璃瓶,100 mL。
- 3.6 尿比重计。

4 试剂

本标准所用试剂除另有说明外,均为分析纯试剂。

- 4.1 实验用水,蒸馏水或同等纯度的去离子水。
- 4.2 马尿酸,优级纯。
- 4.3 苯磺酰氯。
- 4.4 喹啉。
- 4.5 无水乙醇。
- 4.6 三氯甲烷
- 4.7 马尿酸标准溶液。
 - 4.7.1 贮备液:称取 0.1000 g 马尿酸,用水溶解,定量转入 100 mL 容量瓶内,加水至刻度。此溶液 1 mL=1.0 mg 马尿酸。置 4℃ 冰箱保存备用。
 - 4.7.2 应用液:取 20.0 mL 贮备液(4.7.1)于 50 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度。此溶液 1 mL=0.4 mg 马尿酸。在 4℃ 冰箱内可保存一周。
- 4.8 质控样 加标的模拟尿、接触者混合尿或加标的正常人混合尿。

WS/T 52—1996

5 采样、运输和保存

用塑料瓶或玻璃瓶收集接触两天后的班末尿约 100 mL, 尽快测定比重后按 100+1 的体积比加入三氯甲烷, 充分振摇混合, 密闭瓶口, 运至实验室, 于 4℃ 冰箱内可保存两周。

6 分析步骤

6.1 样品处理

取尿样 5.0 mL, 用水稀释 1~5 倍, 视马尿酸的浓度而定。

6.2 标准曲线的绘制

6.2.1 取 8 支比色管按下表配制标准管。

马尿酸标准管的配制

管号	0	1	2	3	4	5	6	7
马尿酸标准应用液, mL	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.40
水, mL	0.5	0.45	0.40	0.35	0.30	0.25	0.20	0.10
马尿酸含量, mg	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	0.16

6.2.2 向各管加入 0.6 mL 喹啉, 混匀后再加入 0.2 mL 苯磺酰氯, 立刻盖紧管塞, 在旋涡混合器上混合 20 s (或用手强烈振摇 25~30 次), 在 30±2℃ 条件下避光放置 30 min。

6.2.3 向各管加入 3.7 mL 乙醇, 混匀, 继续避光放置 30 min。

6.2.4 用 10 mm 比色杯在波长 470 nm 下, 以试剂空白 (0 号管) 为参比, 测量吸光度。

6.2.5 以吸光度为纵坐标, 马尿酸含量为横坐标, 绘制标准曲线。

6.3 样品测定

6.3.1 取 0.5 mL 稀释尿液 (6.1) 两份, 分别加入两支比色管内, 其中一支比色管按标准曲线的绘制 (6.2.2~6.2.3) 步骤操作, 另一支比色管只加 4.5 mL 乙醇, 作尿样底色测定。若加乙醇后溶液发生混浊, 转入离心管, 以 4 000 r/min 的转速离心 10 min。

6.3.2 用 10 mm 比色杯在波长 470 nm 下, 以试剂空白管为参比, 测定尿样吸光度, 以乙醇为参比测定尿样底色吸光度, 在测定前后以及每测定 10 个样品后, 测定一次质控样。

6.3.3 以样品管吸光度值减去尿样底色的吸光度值, 由标准曲线上查得马尿酸的含量。

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) 计算尿中马尿酸的浓度。

$$X = \frac{m \cdot V_1}{0.5 \times V_2} \cdot k \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中: X ——尿中马尿酸的浓度, g/L;

m ——样品吸光度减去尿底色吸光度后由标准曲线上查得的马尿酸含量, mg;

V_2 ——取尿样体积, mL;

V_1 ——尿样稀释后的总体积, mL。

8 说明

- 8.1 本法的检测限为 0.006 g/L;线性范围为 0.04~1.6 g/L(尿样稀释 1~4 倍),精密度: $CV=2.7\% \sim 5.9\%$ (马尿酸含量为 0.062,0.180,0.283 g/L, $n=6$);准确度:尿样加标回收率为 91%~97%(加标浓度为 0.04,0.12,0.20 g/L, $n=6$)。
- 8.2 分析步骤中的试剂加入顺序不能颠倒,当苯磺酰氯加完后应立刻进行振摇,各支管的振摇强度和时间应控制一致。
- 8.3 显色开始后各项操作应尽量在避光条件下进行。
- 8.4 根据尿样感官颜色确定是否需要配尿样底色管,如颜色正常又经多倍稀释,可免去此步骤。
- 8.5 测得浓度超过本法线性范围时,应将尿样适当稀释后重新测定。
- 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。用接触者尿和加标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:汪家兴、姚永祥。

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。