

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 23—1996

尿中 δ -氨基乙酰丙酸的分光光度 测定方法

Urine—Determination of δ -aminolevulinic
acid—Spectrophotometric method

1996-10-14 发布

1997-05-01 实施



中华人民共和国卫生部 发布

中华人民共和国卫生行业标准

尿中 δ -氨基乙酰丙酸的分光光度测定方法

WS/T 23—1996

Urine—Determination of δ -aminolevulinic acid—Spectrophotometric method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中的 δ -氨基乙酰丙酸(δ -ALA)的分光光度测定方法。最低检测浓度为 0.3 mg/L。本标准适用于正常人和接触铅工人尿中 δ -ALA 浓度的测定。

2 原理

尿中 δ -ALA 与乙酰乙酸乙酯缩合生成吡咯化合物。此化合物用乙酸乙酯提取,与对-二甲氨基苯甲醛作用生成红色化合物,在波长 554 nm 处比色定量。

3 仪器

- 3.1 分光光度计,10 mm 比色杯。
- 3.2 具塞比色管,10 mL。
- 3.3 离心机。
- 3.4 电炉。
- 3.5 聚乙烯塑料瓶,100 mL。
- 3.6 尿比重计。

4 试剂

本标准所用试剂除另有说明者外,均为分析纯试剂。

- 4.1 实验用水:为蒸馏水或具有同等纯度的去离子水。
- 4.2 冰乙酸 $\rho_{20}=1.05$ g/mL。
- 4.3 高氯酸, $\rho_{20}=1.67$ g/mL。
- 4.4 无水乙酸钠。
- 4.5 对-二甲氨基苯甲醛。
- 4.6 乙酰乙酸乙酯。
- 4.7 乙酸乙酯。
- 4.8 乙酸盐缓冲液(pH=4.6):于 700 mL 水中加入 57 mL 冰乙酸(4.2),82 g 无水乙酸钠(4.4),溶解后加水至 1 000 mL。
- 4.9 显色剂:于 30 mL 冰乙酸(4.2)中加入 1 g 对-二甲氨基苯甲醛(4.5),5 mL 高氯酸(4.3),5 mL 水,溶解后用冰乙酸(4.2)稀释至 50 mL,混匀,存于冰箱中。
- 4.10 δ -ALA 标准溶液:准确称取 0.012 80 g δ -ALA \cdot HCl。用水溶解后,移入 100 mL 容量瓶中,稀释

至刻度,此溶液 1 mL=0.10 mg δ-ALA。再用水稀释成 1 mL=10 μg δ-ALA 的标准应用溶液。

4.11 质控样:标准尿样、加标的模拟尿、加标的正常人混合尿或接触者的混合尿。

5 采样、运输和保存

用塑料瓶收集铅作业工人尿样 50 mL,尽快带回实验室(夏季运输时最好冷藏),测比重后,放 4℃ 冰箱可保存二周。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 分别取 1 mL 尿样于 2 支 10 mL 具塞比色管中,各加 1 mL 水,2 mL 乙酸盐缓冲液(4.8),混匀,其一为样品管,另一为尿样空白管。

6.1.2 向样品管中加入 0.4 mL 乙酰乙酸乙酯(4.6),向空白中加入 0.4 mL 乙酸盐缓冲液(4.8),充分混匀。

6.2 标准曲线的绘制

6.2.1 取 6 支 10 mL 具塞比色管,按下表配制标准管。

δ-ALA 标准管的配制

管号	0	1	2	3	4	5
δ-ALA 标准应用溶液(4.10),mL	0	0.1	0.3	0.5	0.7	1.0
水,mL	2.0	1.9	1.7	1.5	1.3	1.0
δ-ALA 含量,μg	0	1.0	3.0	5.0	7.0	10.0

6.2.2 向各管中加入 2 mL 乙酸盐缓冲液(4.8),0.4 mL 乙酰乙酸乙酯(4.6),混匀。

6.2.3 于沸水浴中加热 12 min,取出冷却至室温。

6.2.4 各加入 4 mL 乙酸乙酯(4.7),加塞振摇 100 次,离心 5 min,静置分层。

6.2.5 各取 2 mL 乙酸乙酯提取液于另 6 支 10 mL 具塞比色管中,各加 2 mL 显色剂(4.9),混匀,静置 10 min,在 554 nm 处,用 10 mm 比色杯,以零管为参比测量吸光度。

6.2.6 以吸光度为纵坐标,δ-ALA 含量为横坐标,绘制标准曲线。

6.3 样品测定

取 6.1.2 条制备的样品溶液,按 6.2.3~6.2.5 条操作。测得吸光度后,将样品管的吸光度减去尿空白管的吸光度,从标准曲线上查出样品管中 δ-ALA 的含量。在测定前后及每次测定 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)下的浓度的校正系数(k)。

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

7.2 按式(2)计算尿中 δ-ALA 的浓度。

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

式中: X——尿中 δ-ALA 的浓度,mg/L;
 m——样品管中 δ-ALA 含量,μg;
 V——分析时所取尿样的体积,mL。

8 说明

- 8.1 本法的检测限为 0.30 mg/L(取 0.5 mL 尿样)。测定范围:0.30~10.00 mg/L。精密度:CV=1.2%~3.6%。准确度:铅接触者的尿样加标回收率平均 89.0%~95.7%(加标量:1.0,2.0,3.0,5.0 mg/L, $n=6$)。
- 8.2 接触者的尿样采集时间不限,采样时不存在污染问题。尿样 4℃ 保存 14 d 相对偏差为+5.6%。
- 8.3 煮沸时间应从比色管放进水浴后,水重新沸腾,开始计算时间,不得少于 12 min。
- 8.4 尿中 δ -ALA 含量高或颜色较深时,可减少取样量。
- 8.5 本法中红色生成物在 60 min 内稳定。
- 8.6 乙酰乙酸乙酯如变黄色即不能使用。

附加说明:

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由山东省劳动卫生职业病防治研究所负责起草。

本标准主要起草人戴秀莲。

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。