

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 572—2017

血清中碘的测定 砷钪催化分光光度法

Determination of iodine in serum—As³⁺-Ce⁴⁺ catalytic spectrophotometry

2017-08-16 发布

2018-02-15 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心地方病控制中心、福建省厦门市疾病预防控制中心、山西省地方病防治研究所。

本标准主要起草人：申红梅、纪晓红、张亚平、贾清珍、张峰峰、刘丽香、刘颖、黄淑英。

血清中碘的测定 砷铈催化分光光度法

警告：三氧化二砷试剂是剧毒品！使用者有责任采取适当的安全措施。

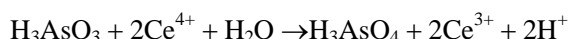
1 范围

本标准规定了血清中碘的砷铈催化分光光度法测定方法。

本标准适用于血清中总碘浓度的测定。

2 原理

采用高氯酸-氯酸钠溶液消化血清样品，利用碘对砷铈氧化还原反应的催化作用：



反应中黄色的 Ce^{4+} 被还原成无色的 Ce^{3+} ，碘含量越高，反应速度越快，所剩余的 Ce^{4+} 则越少；控制反应温度和时间，比色测定体系中剩余 Ce^{4+} 的吸光度值，求出碘含量。

3 仪器

3.1 消化控温加热装置：恒温消解仪（控温点精度 $130^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ，孔间温差 $\leq 1^\circ\text{C}$ ）。

3.2 恒温水浴：控温精度 $\pm 0.3^\circ\text{C}$ 。

3.3 分光光度计，1cm 比色杯。

3.4 玻璃试管：15mm×100mm 或 15mm×120mm。

3.5 定量移液器：100 μL 、1000 μL 、5000 μL ；

定量玻璃移液管：5mL和10mL。

3.6 秒表。

3.7 恒温干燥箱。

3.8 离心机。

4 试剂

4.1 本标准所用试剂除另有说明外，均为分析纯试剂，实验用水应符合 GB/T 6682 中二级水规格。

4.2 高氯酸（ HClO_4 ，70%~72%），优级纯。

4.3 氯酸钠（ NaClO_3 ， $M=106.4$ ）。

- 4.4 浓硫酸 (H_2SO_4 , $\rho_{20}=1.84\text{g/mL}$), 优级纯。
- 4.5 三氧化二砷 (As_2O_3 , $M=197.8$)。
- 4.6 氯化钠 (NaCl , $M=58.4$), 优级纯。
- 4.7 氢氧化钠 (NaOH , $M=40.0$)。
- 4.8 硫酸铈铵 [$\text{Ce}(\text{NH}_4)_4(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $M=632.6$]或四水合硫酸铈铵 [$\text{Ce}(\text{NH}_4)_4(\text{SO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $M=668.6$]。
- 4.9 碘酸钾 (KIO_3 , $M=214.0$), 基准试剂或标准物质。

5 溶液配制

5.1 氯酸钠溶液 [$c(\text{NaClO}_3)=2.0\text{mol/L}$]

称取 106.4g 氯酸钠 (4.3) 溶解于 400 mL 纯水后, 再加纯水至 500mL, 置冰箱 (4°C) 可保存 12 个月。

5.2 硫酸溶液 [$c(\text{H}_2\text{SO}_4)=2.5\text{mol/L}$]

取 140mL 浓硫酸 (4.4) 缓慢加入到 700mL 纯水中, 边加边搅拌, 冷却后用纯水稀释至 1000 mL。

5.3 亚砷酸溶液 [$c(\text{H}_3\text{AsO}_3)=0.025\text{mol/L}$]

称取 2.5g 三氧化二砷 (4.5)、3.0g 氢氧化钠 (4.7) 置于 1L 的烧杯中, 加纯水约 30mL 搅拌至全部溶解, 向烧杯中加入纯水约 500mL, 并加入 40.0g 氯化钠 (4.6), 搅拌至完全溶解, 再缓慢加入 200mL 硫酸溶液 (5.2), 至室温后用纯水定容至 1000 mL, 储于棕色瓶, 室温放置可保存 6 个月。

5.4 硫酸铈铵溶液 [$c(\text{Ce}^{4+})=0.025\text{mol/L}$]

称取 15.8g 硫酸铈铵 (4.8) 或 16.7g 四水合硫酸铈铵 [$\text{Ce}(\text{NH}_4)_4(\text{SO}_4)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] 溶于 700mL 硫酸溶液 (5.2), 用纯水定容至 1000 mL, 储于棕色瓶, 室温放置可保存 6 个月。

5.5 碘标准储备溶液 [$\rho(\text{I})=100\mu\text{g/mL}$]

准确称取经 $105^\circ\text{C}\sim 110^\circ\text{C}$ 烘干至恒重的碘酸钾 0.1686g 于容量瓶中, 加纯水溶解, 并用纯水定容至 1000 mL。储于具塞严密的棕色瓶, 置冰箱 (4°C) 可保存 6 个月。

5.6 碘标准中间溶液 [$\rho(\text{I})=10\mu\text{g/mL}$]

吸取 10.00 mL 碘标准储备溶液 (5.5) 置于 100 mL 容量瓶中, 用纯水定容至刻度。储于具塞严密的棕色瓶, 置冰箱 (4°C) 内可保存 1 个月。

5.7 碘标准使用系列溶液 [$\rho(\text{I})=0\mu\text{g/L}\sim 300\mu\text{g/L}$]

使用前吸取碘标准中间溶液 (5.6) 0 mL、0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL 和 3.00mL 分别置于 100 mL 容量瓶中, 用纯水定容至刻度, 此标准系列溶液的碘浓度分别为 $0\mu\text{g/L}$ 、 $50\mu\text{g/L}$ 、 $100\mu\text{g/L}$ 、 $150\mu\text{g/L}$ 、 $200\mu\text{g/L}$ 、 $250\mu\text{g/L}$ 和 $300\mu\text{g/L}$ 。

6 样品采集和保存

使用一次性真空非抗凝采血管采集不少于 2mL 血液，室温静置 0.5h 后，于 3000r/min 离心 10min，分离出血清置于具塞聚乙烯塑料管中，严密封口以防水分蒸发。在室温（20℃）下可保存 7d，在 4℃ 下可保存 1 个月，密封后冷冻（-20℃）至少可保存 3 个月。

7 分析步骤

7.1 分别取 0.10mL 碘标准使用系列溶液（5.7）及血清样（如果血清样的碘浓度超过标准曲线的碘浓度范围，则用纯水稀释后取样）各置于玻璃试管（3.4）中，各管加入 0.5mL 高氯酸（4.2）、0.6mL 氯酸钠溶液（5.1），混匀后置于 130℃ 的消化控温加热装置中，消化 120min，取下冷却至室温。可在 15℃～30℃ 之间一个稳定的温度环境下（室温或控温）进行以下 7.2～7.4 分析步骤，要求温度波动不超过 $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ 。

7.2 各管加入 3.0mL 亚砷酸溶液（5.3），充分混匀后放置 15min，使其温度达到平衡（注意将标准系列管按碘浓度由高至低顺序排列）。

7.3 秒表计时，依顺序每管间隔相同的时间（30s 或 20s）向各管准确加入 0.60mL 硫酸铈铵溶液（5.4），立即混匀。

7.4 待第一管（即标准系列中加 300 $\mu\text{g/L}$ 碘浓度管）的吸光度值达到 0.10 左右时（不同温度对应的反应时间参考值参见附录 A），依顺序每管间隔同样时间（与 7.3 间隔时间一致）于 400nm 波长下，用 1cm 比色杯，以纯水作参比，测定各管的吸光度值。

7.5 标准曲线绘制：以碘浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。

8 结果计算

8.1 回归方程法：碘质量浓度 c ($\mu\text{g/L}$) 与吸光度值 A 的对数值成线性关系：见式（1），按式（1）求出标准曲线的回归方程，将样品管的吸光度值代入式（1），求出所测样品中碘质量浓度，再按式（2）计算血清中碘的质量浓度。

$$c = a + b \lg A \text{ (或 } c = a + b \ln A) \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C ——碘标准使用系列溶液（或所测样品）中碘的质量浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

a ——标准曲线回归方程的截距；

b ——标准曲线回归方程的斜率；

A ——碘标准使用系列溶液（或所测样品）测定的吸光度值。

8.2 标准曲线法：以碘标准使用系列溶液的碘质量浓度为横坐标和吸光度值为对数纵坐标，在半对数坐标系中绘制标准曲线，以样品管的吸光度值在标准曲线上查得所测样品的碘质量浓度，再式（2）计算血清中碘的质量浓度。

8.3 血清中碘的质量浓度，按式（2）计算：

$$\rho(I) = c \times K \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$\rho(I)$ ——血清中碘（I）的质量浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

c ——由标准曲线查得的或由标准曲线回归方程计算得的所测样品中碘的质量浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

K ——血清样稀释倍数。

9 方法特性

9.2 检出限和测定范围

本法检出限为 $6.9\mu\text{g/L}$ （取血清样量为 0.10mL ），可直接取样消化测定 $0\mu\text{g/L} \sim 300\mu\text{g/L}$ 浓度范围血清碘。

9.3 精密度

在 $0\mu\text{g/L} \sim 300\mu\text{g/L}$ 碘浓度范围内，5个实验室对含碘低、中、高3种浓度的血清样各做6次重复测定，相对标准偏差为 $0.7\% \sim 3.8\%$ ，平均为 1.7% 。

9.4 准确度

在 $0\mu\text{g/L} \sim 300\mu\text{g/L}$ 碘浓度范围内，5个实验室对含碘低、中、高3种浓度的血清样做加标回收，加入碘标准溶液，使加标回收样品浓度增加 $50\mu\text{g/L} \sim 100\mu\text{g/L}$ ，回收率为 $90.0\% \sim 110.0\%$ ，平均为 99.8% 。

在本法条件下，溶血和以下物质均不干扰测定： 11g/L NaCl ， 1.5g/L HPO_4^{2-} ， 700mg/L KNO_3 ， 200mg/L Ca^{2+} ， 365mg/L Mg^{2+} ， 2mg/L F^- ， 2mg/L Fe^{2+} ， 2mg/L Zn^{2+} ， 2mg/L Cu^{2+} ， 0.05mg/L Hg^{2+} ， 2g/L 甘氨酸， 10g/L 葡萄糖， 3g/L 尿素， 30mg/L 抗坏血酸， 100g/L 蛋白。

10 质量保证和质量控制

10.1 实验环境、器皿及试剂应避免碘污染，血清样品在现场采集、运输和保存过程中应避免与含碘物品接触。

- 10.2 样品消化需使用与恒温消解仪消化孔孔径配套的、长度为 100mm 或 120mm 的玻璃试管，以使消化效果一致，保证测定准确度和精密度。
- 10.3 每批样品消化、测定必须同时设置标准系列。
- 10.4 如果室温不稳定或室温较低时，应使用超级恒温水浴进行 7.2~7.4 步骤的分析，温度波动变化不超过 $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ 。
- 10.5 标准曲线回归方程 $c=a+b\lg A$ 或 $c=a+b\ln A$ 的相关系数绝对值应 ≥ 0.999 。
- 10.6 测定前应检查比色皿空白吸光度的一致性，样品皿与参比皿盛纯水在测定波长下比较，吸光度值差异不超过 ± 0.002 。

附 录 A
(资料性附录)

不同温度进行砷铈反应对应的反应时间

对 0 $\mu\text{g/L}$ ~300 $\mu\text{g/L}$ 范围血清碘的测定, 在不同温度下分析步骤 7.4 中所测第一管 (即标准系列中加 300 $\mu\text{g/L}$ 碘浓度管) 吸光度值达到 0.10 左右时砷铈反应所需时间的参考值见表A.1。

表 A.1 0 $\mu\text{g/L}$ ~300 $\mu\text{g/L}$ 范围血清碘的不同温度测定对应的反应时间

温度/ $^{\circ}\text{C}$	反应时间/min	温度/ $^{\circ}\text{C}$	反应时间/min
15	61	23	36
16	57	24	33
17	54	25	31
18	50	26	29
19	47	27	27
20	43	28	26
21	41	29	24
22	38	30	22