民体内砷、镉负荷加重，一方面由于砷、镉元素在体内的蓄积效应，另一方面也反映了当地居民长期处于摄入水平高于排出水平的状态。以煤炭或柴草作为家用主要燃料的居民尿砷、镉均高于其他燃料类型。烟尘是煤炭燃烧产生的主要污染物之一，其颗粒上包裹 Pb、As、Cd、Hg 等多种有毒有害微量元素[13]。而且使用煤炭、柴草作为家用燃料的家庭多属农村居民，其家庭厨房通风环境较差，烟尘尤其是颗粒直径较小的烟尘就会经呼吸道进入机体，造成有害金属的暴露。

本研究中女性尿砷、尿镉水平均高于男性，而女性中吸烟饮酒者所占的比例较少，因此将男女作为一个整体分析可能会低估吸烟、饮酒与尿砷、镉之间的关系。按照性别分层后的分析结果显示，无论在男性还是女性中，吸烟者相对于不吸烟者具有较高的尿镉水平，这与之前田昊渊等报道的吸烟人群的血、尿镉高于非吸烟人群的结论一致[14]。另有研究表明，吸烟可使血镉水平升高，每天吸 20 支香烟，可吸入 2～4 μg 镉[15]。饮酒者相对于不饮酒者具有较低的尿砷水平以及较高的尿镉水平，目前吸烟、饮酒与砷、镉之间的关系还存在争议。

在本次研究的三个地区中，M 地区居民尿砷水平相对于其他两个地区较高。从地理位置上来看，M 地区位于长江下游地区，而 C、T 地区位于长江中下游地区。随着水体的迁移，河流底泥中有害元素堆积，造成下游相对于中上游遭受的污染更严重。而居民尿镉的水平在 C 地区居民中达到最高，这可能与 C 地区电镀、颜料、塑料、合金、电池业等企业集中有关，当地土壤中镉含量均有不同程度的超标[16]，T 地区与 C 地区地理位置上接壤，当地环境可能也会受到影响。

本研究提示安徽省工业城市地区居民尿液中砷、镉负荷可能高于其他地区。尿砷、尿镉水平受到行为、环境多方面的影响，但是由于本研究是一个横断面的描述性研究，因此需要长期纵向的随访研究来进一步探讨影响人群体内微量元素的因素。

参考文献：

[1] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic，metals，fibres，and dusts [R]. International Agency for Research on Center，2012.

[2] Satarug S，Garrett S H，Sens M A，*et al*. Cadmium，environmental exposure，and health outcomes [J]. Environ Health Perspect，2010，118 (2)：182-190.

[3] 曹立. 慢性砷暴露与砷毒性的研究新进展 [J]. 医学综述，2014，20 (17)：3161-3163.

[4] 龚频，白晓换，陈福欣，等. 镉的肝脏毒性研究进展 [J]. 工业卫生与职业病，2016，42 (4)：318-320.

[5] 丁春光，潘亚娟，张爱华，等. 中国八省份一般人群血和尿液中铅、镉水平及影响因素调查 [J]. 中华预防医学杂志，2014，48 (2)：91-96.

[6] Steinmaus C，Ferreccio C，Acevedo J，*et al*. High risks of lung disease associated with early-life and moderate lifetime arsenic exposure in northern Chile [J]. Toxicology & Applied Pharmacology，2016，58 (313)：10-15.

[7] Tellez Plaza M，Jones M R，Dominguez Lucas A，*et al*. Cadmium exposure and clinical cardiovascular disease：A systematic review [J]. Current Atherosclerosis Reports，2013，15 (10)：1-15.

[8] 张洁莹，柯屾，成喜雨，等. 广东省某地区不同年龄段人群镉负荷水平研究 [J]. 环境卫生学杂志，2015，5 (1)：39-43.

[9] 张文丽，姚丹成，冯家力，等. 有色金属矿区非职业接触人群尿砷含量分析 [J]. 中国公共卫生，2012，28 (1)：85-86.

[10] Zeng Q，Zhou B，Feng W，*et al*. Associations of urinary metal concentrations and circulating testosterone in Chinese men [J]. Reproductive Toxicology，2013，41 (6)：109-114.

[11] Son J Y，Lee J，Paek D，*et al*. Blood levels of lead，cadmium，and mercury in the Korean population：results from the second Korean national human exposure and bio-monitoring examination [J]. Environmental Research，2009，109 (6)：738-744.

[12] Cauli O. Gender differences in neurotoxicity [J]. Toxicology，2013，311 (1-2)：1-2.

[13] 范海燕. 煤燃烧超细颗粒物及其重金属生成与分布特征研究 [D]. 浙江大学，2004.

[14] 田昊渊，阎波，庞妍，等. 辽宁省一般人群血和尿中镉水平研究 [J]. 中国工业医学杂志，2016，29 (1)：15-19.

[15] Madeddu R，Solinas G，Forte G，*et al*. Diet and nutrients are contributing factors that influence blood cadmium levels [J]. Nutrition Research，2011，31 (9)：691-697.

[16] 许四五. 池州市沿江地区有毒有害重金属调查研究 [J]. 现代农业科技，2012，19 (6)：295-296.

紫外可见分光光度法测定尿中百草枯

Determination of paraquat in urine by ultraviolet visible spectrophotometry

周旋，冯加武，黄开发，刘婕，孙敬智，凌瑞杰

（湖北省职业病医院/湖北省中西医结合医院，湖北 武汉　430015）

摘要：尿中百草枯在碱性溶液中与连二亚硫酸钠反应生成蓝色溶液，采用紫外可见分光光度计法检测尿中百草枯的浓度。本方法通过改进，操作步骤更加简单方便，重复性好，在线性范围 0～8.0 μg/ml 内，呈线性关系 $r^2 = 0.999\ 8$，平均加标回收率 99.43%～102.97%，相对标准偏差 0.62%～2.52%，方法检出限为 0.14 μg/ml。本法可快速定量检测急性中毒患者尿中百草枯的含量，为临床疑似百草枯中毒病人提供诊断依据，并有助于临床医生判断百草枯中毒患者的

收稿日期：2016-11-07

作者简介：周旋（1985—），女，硕士，从事职业病防治相关工作。

通信作者：凌瑞杰，主任医师，E-mail：ling4240@sina.com。

预后。

关键词：百草枯；尿；快速检测；方法改进

中图分类号：R446.1；R139.3　　**文献标识码**：B

文章编号：1002-221X(2017)03-0233-03

DOI：10.13631/j.cnki.zggyyx.2017.03.029

百草枯（paraquat）又名对草快、杀草快、一扫光、克无踪，其有效成分为 1,1′-二甲基-4,4′联吡啶阳离子盐，是一种农作物除草剂。百草枯对人畜均有较强毒性，病程进展快且无特效解毒药物，临床上病死率高达 60%～80%[1]。

尿中百草枯检测分析方法有多种，比如液相色谱法（HPLC）、气相色谱法（GC）、气质联用法（GC/MS）和毛细管电泳技术等。这些方法虽然灵敏度比较高，但是使用的仪器和试剂均较昂贵，样品的前处理较复杂，时间较长，不适用于临床急性百草枯中毒病人的快速检测分析。本文拟采用碱性的连二亚硫酸钠将百草枯还原成蓝色的自由基后，用分光光度法测定百草枯的含量，该方法在他人方法[2,3]的基础上，通过改进使其操作更加简单方便，能完全满足临床快速检测需求。

1　材料与方法

1.1　仪器与试剂

UV-1200 紫外可见分光光度计、pH 计（奥豪斯，Starter 3C），200 mg/ml 百草枯（市售 20%溶液），碳酸钠（分析纯），碳酸氢钠（分析纯），连二亚硫酸钠（分析纯），滤纸。

1.2　溶液配制

将市售 20%百草枯用蒸馏水稀释成 40 μg/ml 百草枯应用液。称量 22.5 g 无水碳酸钠和 7.5 g 碳酸氢钠溶于 200 ml 蒸馏水制成碳酸钠-碳酸氢钠（Na_2CO_3-$NaHCO_3$）缓冲液。取1 g连二亚硫酸钠溶于 10 ml Na_2CO_3-$NaHCO_3$缓冲液中制成 10%连二亚硫酸钠溶液。

1.3　样品处理

将采集的正常人尿液和患者尿液临用前分别用滤纸过滤。

1.4　标准曲线绘制

分别取百草枯应用液 0、50、100、200、400、600、800、1 000 μl于 7 支比色管中，各管加正常人尿液至 5 ml，摇匀，配制成 0、0.4、0.8、1.6、3.2、4.8、6.4、8.0 μg/ml 百草枯标准管。向各管中加入 Na_2CO_3-$NaHCO_3$ 5 ml、10%连二亚硫酸钠溶液 50 μl，立即混匀，于 396 nm 波长下 1 cm 比色皿，以第 1 管溶液为参比测定吸光度为 y 值，百草枯浓度为 x 值，求得标准曲线的回归方程。

1.5　样品测定

分别取 5 ml 待测尿液于 2 支比色管中，加入 Na_2CO_3-$NaHCO_3$缓冲液 5 ml，1 管为空白对照管，另 1 管加入 10%连二亚硫酸钠溶液 50 μl（样品管）。两管立即摇匀，于 396 nm 波长下，1 cm 比色皿，所得吸光度等于（$A_{样}-A_{空白}$），将（$A_{样}-A_{空白}$）代入回归方程即为尿中百草枯的浓度。

2　结果与讨论

2.1　连二亚硫酸钠量的改进

在空白溶液和 8.0 μg/ml 百草枯标准管中分别加入 0.05、0.03、0.02、0.01、0.005、0.002 g 连二亚硫酸钠，空白溶液前后吸光度明显减少，8.0 μg/ml 百草枯标准管吸光度的变化最小。通过多次实验测得，连二亚硫酸钠加入量为 0.005 g（即 10%连二亚硫酸钠溶液 50 μl）时，对空白溶液吸光度基本无影响，且完全满足 8.0 μg/ml 百草枯标准管的反应。见图 1。

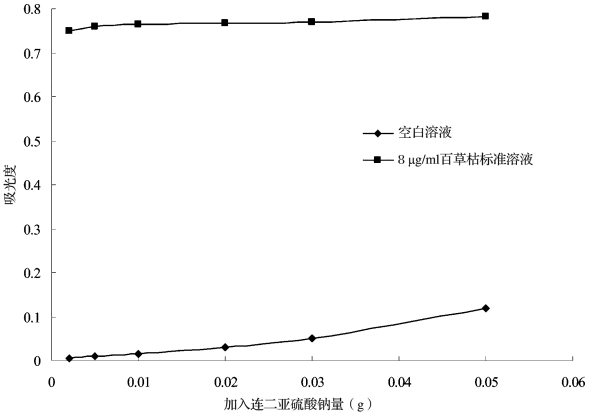

图 1　连二亚硫酸钠的量对吸光度的影响

2.2　波长的选择

大量研究报道，百草枯测定波长基本在 395～397 nm 之间[2~4]。本研究将配制 8.0 μg/ml 百草枯溶液按照标准曲线的方法加入连二亚硫酸钠后，立即放入紫外分光光度计中测定。经多次重复实验，检测结果呈抛物线性，吸光度值在 396 nm 时最大，故本实验将波长选定为 396 nm。见图 2。

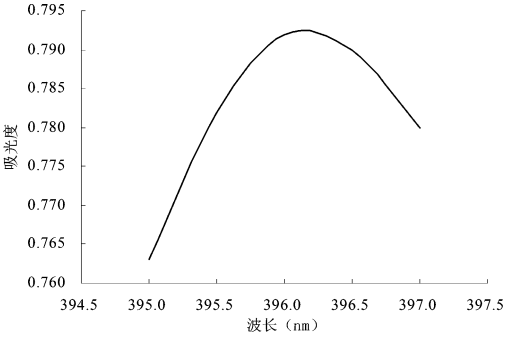

图 2　波长的选定

2.3　缓冲溶液的影响

将 Na_2CO_3-$NaHCO_3$缓冲液与尿液 1∶1 混合后，经测定，pH 值≈10。将 Na_2CO_3-$NaHCO_3$配制成缓冲溶液，比加入固体粉末的操作要方便，同时与尿液 1∶1 混合后起到降低尿液背景颜色的作用。

2.4　回归方程与检出限

本实验标准曲线在 0～8.0 μg/ml 的范围内呈良好线性关系，$r^2=0.999\,8$，回归方程为 $y=0.098\,1x-0.001\,7$。以空白溶液连续 10 次测定值的 3 倍标准差作为检出限，尿液中的检出限为 0.14 μg/ml，最低检出浓度为 0.14 μg/ml（以 5 ml 尿液计）。

2.5　方法的回收率及精密度

在正常人尿液中，分别加入低、中、高含量百草枯标准溶液，每个浓度平行测定 6 次，其平均回收率分别为 99.43%、102.97%、99.81%，精密度分别为 2.52%、0.62%、0.84%，见表 1。

表 1　回收率及精密度（$n=6$）

加标量（μg）	测得加标量（μg）	测得平均值（μg）	平均回收率（%）	相对标准差（%）
4	3.91	3.98	99.43	2.52
	3.96			
	3.91			
	4.01			
	4.16			
	3.91			
24	24.81	24.72	102.97	0.62
	24.81			
	24.65			
	24.60			
	24.91			
	24.50			
40	40.35	39.95	99.88	0.84
	39.69			
	40.00			
	39.74			
	39.59			
	40.35			

2.6　注意事项

若空白尿液本底颜色较深（吸光度>0.4 时），建议将尿液用纯水稀释至 5 ml 后再按照本实验方法进行测定。当尿液中加入连二亚硫酸钠摇匀后，建议立即进行比色。

3　实例应用

【病例 1】女，30 岁，口服百草枯 6 h 入院。家属代诉患者于入院前一天 23：00 左右口服百草枯约 20 ml，10~20 min 后到当地医院就诊，予洗胃、导泻、速尿利尿、补液等治疗后转诊于我院。否认肝病、结核病史，否认药物过敏史等既往史。查体：T 36.4 ℃、P 100 次/min、R 20 次/min、BP 116/74 mm Hg，意识清，精神差，皮肤干燥，浅表淋巴结无肿大，双侧瞳孔等大等圆，直径约 3 mm，光反射灵敏，口腔黏膜完整，颈软，双肺呼吸音粗，未闻及干湿性啰音，心率 98 次/min，未闻及病理性杂音，腹软，剑突下无压痛，肝脾肋下未及，双下肢无水肿。辅助检查：WBC 13.36×10^9/L，N 0.95，凝血功能正常，肝肾功能正常，血 K^+ 3.2 mmol/L，入院首次尿中百草枯浓度 8.7 mg/L。诊断为急性百草枯中毒。入院后，经患者及家属同意进行血液净化（CVVHDF）加血液灌流（HP）治疗。第 2 天尿中百草枯浓度 4.57 mg/L，第 3 天 2.87 mg/L。经过 3 d 抢救与治疗，患者持续呼吸困难，病情进行性加重，双下肢病理征阳性，交待病情后家属要求自动出院，给予自动出院。

【病例 2】女，33 岁，因口服百草枯上腹部不适 8 h 入院。家属代诉患者于入院当天 11：00 左右口服农药（百草枯）约 20 ml，20 min 后到当地医院就诊，予洗胃、导泻、速尿利尿、补液等治疗。否认肝病、结核病史，否认药物过敏史等既往史。查体：T 36.2℃、P 98 次/min、R 20 次/min、BP 120/80 mm Hg，意识清，精神差，皮肤干燥，浅表淋巴结无肿大，双侧瞳孔等大等圆，直径约 3 mm，光反射灵敏，口腔黏膜完整，颈软，双肺呼吸音粗，未闻及干湿性啰音，心率 98 次/min，未闻及病理性杂音，腹软，剑突下无压痛，肝脾肋下未及，双下肢无水肿。辅助检查：心电图基本正常。入院首次检测尿中百草枯浓度为 1.7 mg/L。诊断为急性百草枯中毒。入院后，经患者及家属同意进行 CVVHDF 加 HP 治疗。第 2 天尿中百草枯浓度 2.0 mg/L，第 3 天 1.7 mg/L，第 4 天 1.5 mg/L，第 5 天 0.8 mg/L。住院治疗 1 个月，患者诉咳嗽、咳痰明显减轻，无其他不适，双肺呼吸音清楚，复查血常规、白细胞正常，出院。

上述 2 例百草枯急性中毒患者，发病起因和救治过程具有一定的相似性，但是结局完全不一样，主要与口服百草枯的浓度有关，从入院后首次尿中百草枯浓度可以看出。据报道，百草枯中毒患者在中毒 24 h 内尿中百草枯浓度对提示预后具有重要价值，甚至比血浆中的浓度更早提示预后，是判断中毒预后的理想指标[5~7]，在指导抢救措施过程中具有重要意义和实用价值。不但能指导早期轻症中毒患者的干预治疗，又可以防止极重度中毒患者的过度医疗。本实验室今后将深入研究尿中百草枯的含量与预后之间的剂量-反应关系，为提高百草枯中毒患者的救治成功率提供依据。

参考文献：

[1] 郑敏辉．卡托普利、氯沙坦对百草枯中毒大鼠肺纤维化的干预作用及对肺组织 PIGF 表达的影响［D］．福建医科大学，2006.

[2] 石杰，陈锦辉，秦文华，等．尿中百草枯的快速检验［J］．中国卫生检验杂志，2006，16（8）：943，968.

[3] 孙世义，王翠，罗晓芳．分光光度法快速测定尿中百草枯［J］．中国卫生检验杂志，2008，18（5）：819，874.

[4] 王超洋，秦文华．工作场所空气中百草枯紫外分光光度测定法建立［J］．中国职业医学，2012，39（4）：338-339.

[5] 田英平，邱泽武．百草枯中毒的救治［J］．中国实用内科杂志，2007，27（15）：1166.

[6] Gil H W，Kang M S，Yang J O，*et al*. Association between plasma paraquat level and outcome of paraquat poisoning in 375 paraquat poisoning patients［J］. Clin Toxicol（Phila），2008，46（6）：515-518.

[7] Koo J R，Yoon J W，Han S J，*et al*. Rapid analysis of plasma paraquat using sodium dithionite as a predictor of outcome in acute paraquat poisoning［J］. Am J Med Sci，2009，338（5）：373-377.