

司法鉴定技术规范

SF/Z JD0107010—2011

血液中碳氧血红蛋白饱和度的测定 分光光度法

2011-03-17 发布

2011-03-17 生效

中华人民共和国司法部
司法鉴定管理局 发布

目 次

前 言.....	II
1 主题内容与适用范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 原理.....	1
4 仪器与试剂.....	1
5 操作方法.....	1
6 结果评价.....	2
附 录(资料性附录).....	3

前 言

本技术规范的附录为资料性附录。

本技术规范由司法部司法鉴定科学技术研究所提出。

本技术规范由司法部司法鉴定科学技术研究所负责起草。

本技术规范主要起草人：卓先义、刘伟、卜俊、向平、沈保华、马栋、严慧。

血液中碳氧血红蛋白饱和度的测定

分光光度法

1 主题内容与适用范围

本技术规范规定了血液中碳氧血红蛋白饱和度（HbCO%）的测定方法。

本技术规范适用于血液中 HbCO% 的定量分析。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本技术规范的引用而成为本技术规范的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本技术规范，然而，鼓励根据本技术规范达成协议各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本技术规范。

GA/T 122 毒物分析名词术语

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

分光光度法测定血液中 HbCO% 是基于在一定波长下，HbCO% 与其吸光度成正比。利用双波长法，从正常人血和 CO 饱和血的体系中选择两对等吸收点（本方法中选择 $\lambda_1=530\text{nm}$ ， $\lambda_2=583\text{nm}$ ， $\lambda_3=569\text{nm}$ ，组成两对等吸收点，以有效消除干扰，减少误差），测出检材血及检材通入 CO 饱和血的两对等吸收点的吸收度差值，以其比值求得 HbCO%。

4 仪器与试剂

4.1 仪器：紫外/可见分光光度计。

4.2 移液器。

4.3 7mmol/L 氢氧化铵稀释液：取 0.05mL 的 28% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ 加蒸馏水稀释至 100mL。

4.4 CO 气体：管道煤气。

5 操作方法

5.1 样品测定

用移液管吸取 100 μL 血液检材置 10mL 试管中，用 7mmol/L 氢氧化铵稀释液 10mL 稀释，以稀释液为参比，测其在 $\lambda_1=530\text{nm}$ ， $\lambda_2=583\text{nm}$ ， $\lambda_3=569\text{nm}$ 的吸收值 A，求出 $\Delta A_1(A\lambda_1 - A\lambda_2)$ 、 $\Delta A_2(A\lambda_3 - A\lambda_2)$ ，然后将此样品溶液通 CO 气体约 15 分钟至饱和，气泡以 1~2 个/秒为宜，复测样品溶液在 $\lambda_1=530\text{nm}$ ， $\lambda_2=583\text{nm}$ ， $\lambda_3=569\text{nm}$ 的吸收值 A'，求出 $\Delta A_1'(A'\lambda_1 - A'\lambda_2)$ 、 $\Delta A_2'(A'\lambda_3 - A'\lambda_2)$ ，根据 $\Delta A_1/\Delta A_1'$ 和 $\Delta A_2/\Delta A_2'$ ，求出 HbCO 饱和度。

5.2 记录与计算

记录检材在 $\lambda_{530\text{nm}}$ 、 $\lambda_{583\text{nm}}$ 、 $\lambda_{569\text{nm}}$ 的吸收值，求出 ΔA_1 、 ΔA_2 ，样品溶液通 CO 气体后再测 $\lambda_{530\text{nm}}$ 、 $\lambda_{583\text{nm}}$ 、 $\lambda_{569\text{nm}}$ 的吸收值，求出 $\Delta A_1'$ 、 $\Delta A_2'$ ，血液中 HbCO 饱和度 C 按公式 (1) 计算：

$$C (\%) = (C_1' + C_2') / 2 \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$$C_1' = \Delta A_1 / \Delta A_1'$$

$$C_2' = \Delta A_2 / \Delta A_2'$$

5.3 双样相对相差

样品应按以上步骤同时平行测定两份，双样相对相差按公式(2)计算：

$$\text{双样相对相差} (\%) = \frac{|C_1 - C_2|}{C} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

C_1 、 C_2 为两份检材平行定量测定的结果；

C 为两份检材平行定量测定结果的平均值 $(C_1 + C_2) / 2$ 。

6 结果评价

6.1 正常吸烟者血液中 HbCO% 低于 10%。一氧化碳中毒者血液中 HbCO% 应大于 15%。

6.2 两份检材的双样相对相差不得超过 20%，结果按两份检材 HbCO% 的平均值计算，否则需要重新测定。

附 录

(资料性附录)

1 数据处理

结果表达为小数点后保留 2 位数字。

2 波长的选择

用氢氧化铵稀释液稀释血液 (n=8, 包括正常人血和腐败血) 及相应的通 CO 气体饱和血液, 以稀释液为空白, 分别进行波长 500~600nm 扫描。本方法中选择参考波长 $\lambda_1=530\text{nm}$ 、 $\lambda_2=583\text{nm}$ 和 $\lambda_3=569\text{nm}$, 组成两对等吸收点。测出两对等吸收点的吸收度差值 $\Delta A_1 = A_1 - A_2$, $\Delta A_2 = A_3 - A_2$ 。

3 饱和 HbCO 血液制备

空白血液通入 CO 气体, 每隔一段时间测定 1 次吸收度, 求得其吸收度差值, 实验结果见表 1。结果表明, 通 CO 气体 10min 后吸收度差值趋于稳定。故血液样品通 CO 气体至少 10 min 后方可达饱和。注意通 CO 时应不断摇动使其均匀。

表 1: 血液通 CO 气体后吸收度差值

No.	时 间 (min)	Abs< λ_{530} >	Abs< λ_{569} >	Abs< λ_{583} >	ΔA_1	ΔA_2	平均 ΔA
1	3	1.315	1.352	0.918	0.397	0.434	0.416
2	5	1.295	1.302	0.858	0.437	0.444	0.441
3	10	1.274	1.212	0.761	0.513	0.451	0.482
4	15	1.303	1.225	0.771	0.532	0.454	0.493
5	25	1.287	1.214	0.760	0.527	0.454	0.491
6	40	1.266	1.201	0.744	0.522	0.457	0.490

4 精密度

采用 60% HbCO 的血液进行精密度测定 (n=6), 精密度的 2.13%。

5 说明

本技术规范参照和参考了毒物分析行业现行的操作方法和近几年的文献, 以及本实验室有关定量检测碳氧血红蛋白饱和度的经验。