

汗斑定性检验的探讨

雍立贤

在检案、教学实践中对汗斑的定性问题，尚缺乏检验方法。原因是汗液无论在形态学方面或所含成份均未发现特异性。因此，多年来常有省略此步，而代之以分析判断，继而进行型物质检验。国外也大致如此。这样即使检验出型物质，严格说很难确定其属性问题。因为，型物质较为广泛地存在于各种体液、分泌液、排泄物以及组织脏器之中，对检材未作定性检验，就缺少科学依据。

为了解决上述问题，参阅了一些有关资料，作了一些探讨性的实验。其中包括磺基水杨酸法、氯化高铁法、硝酸亚汞法、薄层层析法、对羟基联苯法等。经比较，后者效果较好。其特点是：分辨性能显著，操作方法简便，无需特殊设备。现将实验情况报告如下：

一、实验材料

试剂：

浓硫酸（优级纯）、对羟基联苯、1%对羟基联苯无水乙醇液、乙酸乙酯、正己烷、三氯醋酸饱和液、氯仿、95%乙醇、硅胶G。

检材：

人血斑痕、人血清斑痕、人血细胞斑痕、猪血斑痕、鸡血斑痕、人乳斑痕、羊乳斑痕、唾液斑痕、尿液斑痕、精液斑痕。

各种汗液斑痕，其中包括：夏季自然出汗、冬季烧锅炉出汗、吃辣椒刺激出汗、激烈运动后出汗。男、女均以洁净纱布擦取；此外，还有棉帽里衬、衬衫衣领、圆领短袖汗衫腋窝部、衬裤腰部。

各种浓度的乳酸斑痕以及丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、核黄素、葡萄糖等。

二、实验方法与结果

点滴反应法：剪取0.5-1平方厘米检材，放入小试管中，加生理盐水或蒸馏水浸没检材。置室温（约20℃）下浸泡1小时，用玻棒挤压数次，然后以1000转/分离心3分钟，吸取上清液，放入试管内，在沸水浴中浓缩至干。取下待冷至约30℃左右，加入浓硫酸适量，振摇均匀，再将此混合液倒在白磁反应板的凹窝内，立即加入对羟基联苯少许，约1-3分钟。若检材为汗斑，即可出现紫红色，逐渐转变成深紫色或紫灰色，是为阳性反应。

也可将检材浸出液直接放入白磁反应板的凹窝内，再将反应板放在沸水浴上浓缩至干。稍冷后加入浓硫酸，必要时应用小玻棒刮擦干固在反应板上的浸出液痕，并搅拌均匀。然后加入对羟基联苯，可得同样结果。现将几种斑痕检材实验的结果列于表一：

(表一)

检 材 种 类	保 存 时 间	例 数	反 应 结 果	
			阳 性	阴 性
唾 液 斑 痕	新 鲜	5		-
	三 年	5		-
血 清 " "	新 鲜	4		-
	三 年	4		-
人 血 " "	新 鲜	6		-
	五 年	6		-
猪 血 " "	新 鲜	3		-
	三 年	3		-
鸡 血 " "	新 鲜	2		-
	三 年	2		-
人 乳 " "	新 鲜	2		-
	二 年	2		-
羊 乳 " "	新 鲜	2		-
	二 年	2		-
人 尿 " "	新 鲜	2		-
	二 年	2		-
精 液 " "	新 鲜	3		-
	二 年	3		-
汗 液 " "	新 鲜	10	+	
	二 年	10		
盐 水 " "	新 鲜	1		-
	二 年	1		-
乳 酸 " "	新 鲜	1	+	
	二 年	1		
丝 氨 酸	新 鲜	1		-
		1		-
甘 氨 酸	"	1		-
丙 " "	"	1		-
核 黄 素	"	1		-
葡 萄 糖	"	1		-

人体不同部位分泌的汗液，用洁净纱布擦取凉干，制成斑痕后分别进行实验。结果见表二：

(表二)

泌 汗 部 位	保 存 时 间	性 别	例 数	反 应 结 果	
				阳 性	阴 性
额 部 汗 痕	新 鲜、二 年	男	2	+	
		女	3	+	
颈 部 " "	" 、 "	男	2	+	
		女	3	+	
腋 窝 部 汗 "	" 、一 年	男	2	+	
		女	2	+	
胸 部 汗 "	" 、 "	男	3	+	
		女	1	+	
背 部 " "	" 、 "	男	2	+	
		女	1	+	
腰 部 " "	" 、 "	男	2	+	
		女	1	+	

此外，对明显被汗液浸湿过的棉帽里衬边缘部，衬衫领部，腋窝部以及衬裤腰部进行检验结果也均获阳性反应。

薄层层析法：

吸附剂：硅胶G

展开剂：

1. 乙酸乙酯：正己烷：三氯醋酸饱和液 = 250:50:1

2. 氯仿：95%乙醇 = 1:1

显色剂：

1%对羟基联苯无水乙醇溶液、浓硫酸

操作方法：

将检材（原液或浸出液）浓缩后，反复点于硅胶G薄层板上，斑点干后，置展开剂中展

图一



0 0
0

血液 乳酸 唾液 汗液 尿液 精液

图二

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

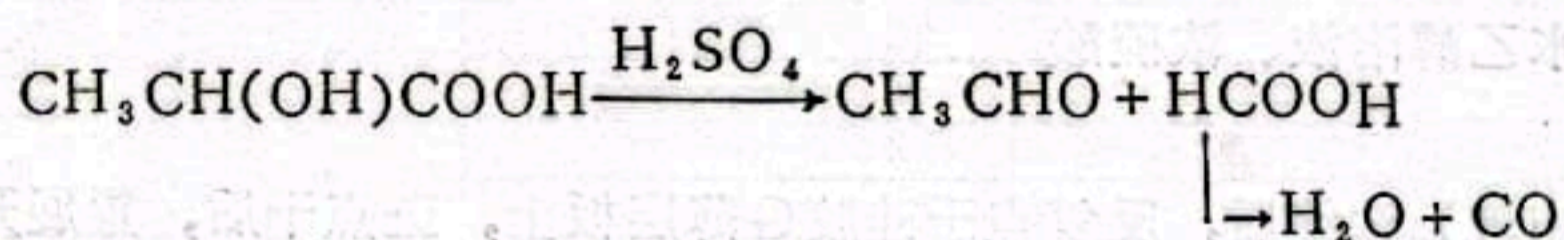
50 40 30 20 10 30 24 16 8 4 2
 乳酸标准液 (γ/μl)
 汗液 (μl)

开。挥去展开剂，喷雾1%对羟基联苯无水乙醇溶液。待干后，沿斑点上升的位置从薄板上部喷雾（或滴加）浓硫酸，再将薄板置加热器上稍加热，如系汗斑，即出现1-2个红紫色的斑点。乳酸可出现一个红紫色的斑点。实验结果见图一、图二。

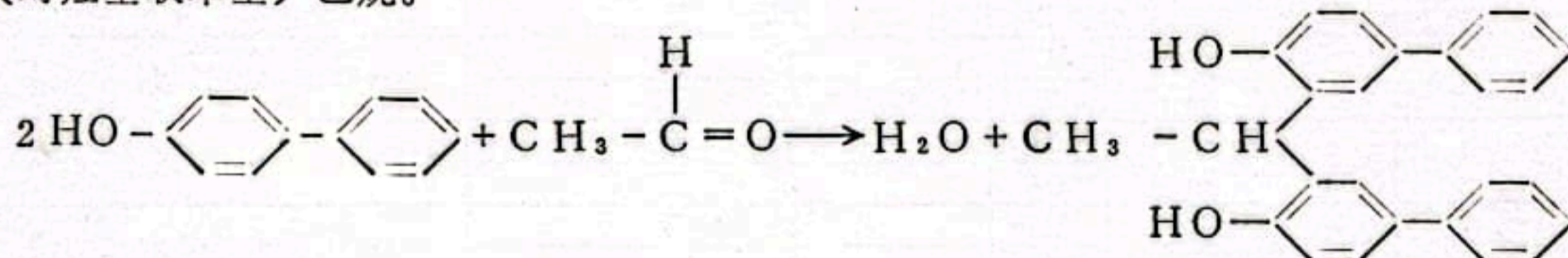
三、讨论

1. 检验的原理：

关于汗液的成份，从资料介绍得知有几十种。其中含量较大的为乳酸。因此，采用对羟基联苯的点滴反应法对汗斑中的乳酸进行了检验。其原理是采用浓硫酸和汗斑浸出物共热的方法，使汗斑中所含乳酸分解为乙醛和甲酸，而甲酸又立即进行分解成水和一氧化碳。



乙醛再和对羟基联苯作用，使对羟基联苯在(OH)基的邻位上发生缩合，而形成二-(对羟基联苯基)乙烷。



二-(对羟基联苯基)乙烷又能被硫酸逐渐氧化成紫红色至紫灰色产物。通过显色反应，即可检验出汗斑中的乳酸。

但当用乳酸标准液作对照，测定汗液的最小检出量时，发现用点滴反应的方法测出的汗液中乳酸含量，超过资料中所介绍的含量，其结果如表三： (表三)

检 样 名 称	乳酸标准液 (微克/微升)					汗 液				
	1	3	5	6	7	0.5	1	1.5	2	3
取 样 量 (微升)										
结 果	-	-	±	+	+	-	+	+	+	+
乳酸含量 (微克)	1	3	5	6	7	6	9	12	18	

从上表中我们可看出，该法对汗液的检验是很灵敏的。其最小检出量为1微升。而乳酸标准液的最小检出量为6微克。以此标准推算，1微升汗液中应含乳酸6微克。据资料介绍汗液中乳酸含量为0.35-0.6毫克/毫升。表三结果表明超过记载量约10倍以上，这实际是不可能。因此，推断在汗液中除含乳酸成分外，还含有其他成份，且能与对羟基联苯作用生成紫红色。试验期间曾用汗液中含量稍大的成份如丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、核黄素、葡萄糖、氯化钠等进行对照，均呈阴性。为探讨，又进一步做薄层层析。证实汗液中除呈现乳酸斑点(A点)外，且含有其他成份(B点)。B点大于A点。说明含量B点的成份大于A点的成份。汗液最小用量至2微升即可显出B斑点，而A斑点需汗液30微升以上方可显出。关于B点成份还有待进一步研究。

2. 阴性斑痕原因：人体其他分泌液、体液虽也含有乳酸成份，但其含量较汗液中的含量低，且又缺乏B点成份。所以，虽经多次检验均呈阴性反应。

另外，与乳酸在其他分泌液、体液中存在的形式也很有关系。血液中乳酸变动性大。因为大部分经血循环至肝变成肝糖原和血糖，少数又可被肾脏消除。加之，血中蛋白质、葡萄

