

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 63—1996

尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法

Urine—Determination of thiodiglycolic acid
—Gas chromatographic 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

尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法

WS/T 63—1996

Urine—Determination of thiodiglycolic acid

—Gas chromatographic method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中亚硫基二乙酸(TDGA)的气相色谱测定方法。本法最低检测浓度为0.25 mg/L。本标准适用于接触氯乙烯的工人尿中亚硫基二乙酸的测定。

2 原理

尿样经酸化后蒸至近干,放冷后用甲醇-乙醚混合液溶解亚硫基二乙酸,将溶剂浓缩后,用重氮甲烷酯化,然后进行气相色谱分析,以保留时间定性,峰高定量。

3 仪器

- 3.1 气相色谱仪,火焰光度检测器。
- 3.2 微量进样器,10 μ L。
- 3.3 瓷蒸发皿,10 mL。
- 3.4 刻度离心管,10 mL。事先要进行刻度校正,并经硅烷化处理(经1+9二甲基二氯硅烷甲苯液浸泡,取出晾干,再经300°C烘烤3 h)。
- 3.5 分液漏斗,30 mL。
- 3.6 具支试管(大型气泡采样管外套管)。
- 3.7 聚乙烯塑料瓶,100 mL。
- 3.8 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,蒸馏水或具有同等纯度的去离子水。
- 4.2 盐酸, $\rho_{20}=1.19$ g/mL。
- 4.3 盐酸溶液,6 mol/L。
- 4.4 氢氧化钾溶液,400 g/L。
- 4.5 甲醇。
- 4.6 乙醚。
- 4.7 甲醇-乙醚混合液(2+1)。
- 4.8 固定相:聚乙二醇20 M。
- 4.9 担体:Chromosorb W AW DMCS,80~100目。
- 4.10 二甲基二氯硅烷甲苯溶液,1+9。

- 4.11 亚硝基甲脒,制备方法见附录 A。
- 4.12 亚硝基二乙酸,制备方法见附录 B。
- 4.13 亚硝基二乙酸标准液:准确称取 50 mg 亚硝基二乙酸,用甲醇溶解,在 50 mL 容量瓶用甲醇稀至刻度。此溶液 1 mL 相当于 1 mg 亚硝基二乙酸,于 4℃ 冰箱中至少可使用一个月。临用前用乙醚稀释成 1 mL 相当于 10 μg 亚硝基二乙酸的标准应用液。
- 4.14 质控样:用加标模拟尿、接触者混合尿或加标的正常人混合尿作质控样。

5 采样、运输和贮存

用聚乙烯塑料瓶收集接触氯乙烯的工人班后尿或班前尿样,测比重后按约 99+1 的比例加入盐酸(4.1)酸化、混匀,于 4℃ 冰箱中可保存两周,分析前将尿液彻底混匀。

6 分析步骤

6.1 仪器操作条件

色谱柱:柱长,2 m,内径,3 mm,玻璃柱。

固定液:担体=5:100。

柱温:180℃。

载气(纯氮):50 mL/min。

燃气(氢气):60 mL/min;助燃气(空气):70 mL/min,氧/氢:0.23。

光电倍增管高压:750 V。

6.2 样品处理

6.2.1 取 1 mL(或 2 mL)尿样于蒸发皿内,加 0.1 mL 盐酸(4.2),混匀。用蒸汽加热使样品蒸发至湿结晶状态,随即取下放冷至室温。在不断搅拌下或摇动下沿蒸发皿四周加入 0.3 mL(或 0.6 mL)甲醇-乙醚混合液(4.6),使内容物溶脱皿壁,加入 3 mL 乙醚(4.5)。将上清液移入刻度离心管中,再用少量乙醚(每次 2~3 mL)洗涤残渣两次,合并醚液,于温水浴中(约 45℃)浓缩至 1 mL。

6.2.2 取约 200 mg 亚硝基甲脒于具支试管中,加 0.5~1 mL 乙醚,试管口处用橡皮塞与分液漏斗[内盛氢氧化钾溶液(4.3)]联接,通入样品管的玻璃滴管用硅橡胶管与支管相接。打开分液漏斗活塞,让氢氧化钾溶液徐徐下滴,此时重氮甲烷气体就由支管导入样品管底部,使样品发生重氮化反应,直至醚液变微黄色为止。再放置 10 min,加入 1 mL 甲醇(4.4),细心在温水浴上赶走过剩的重氮甲烷和乙醚,使最后体积在室温下定容为 1.0 mL。

6.3 标准曲线的绘制

取 6 支刻度离心管,按下表配制标准管。

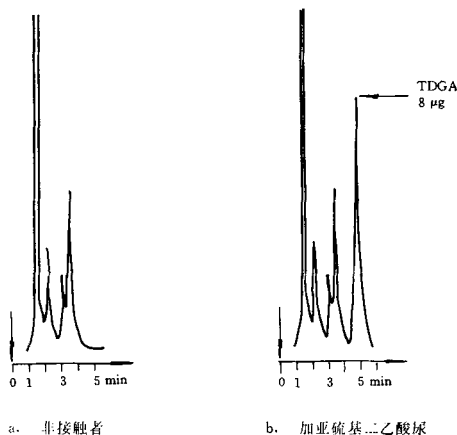
亚硝基二乙酸标准管的制备

符 号	0	1	2	3	4	5
亚硝基二乙酸标准应用液, mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
乙醚, mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
TDGA 含量, μg	0	2	4	6	8	10

以下按 6.2.2 条的分析步骤操作。取 2~5 μL 酯化后的溶液注入色谱仪,测定各管的峰高值。1~5 管的峰高值减去零管值后,取其对数为纵坐标,亚硝基二乙酸含量为横坐标,绘制标准曲线。

6.4 样品测定

取按 6.2 条处理后的 2~5 μL 样品溶液注入色谱仪,测定峰高值,减去标准空白(0 管)的峰高值,从标准曲线或回归方程查出或求出样品中亚硝基二乙酸的含量。在测定前后以及每测定 10 次样品后测一次质控样。色谱图见下图。



尿样色谱图

7 计算

7.1 按式(1)计算尿样换算成标准比重(1.020)下的浓度校正系数 k 。

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

7.2 按式(2)计算尿中亚硫酸二乙酸的浓度。

$$X = m \cdot k / V \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中: X ——尿中亚硫酸二乙酸的浓度, mg/L;

m ——由标准曲线回归方程计算或查得的亚硫酸二乙酸含量, μg ;

V ——分析时取尿样量, mL。

8 说明

8.1 本法的最低检测浓度为 0.25 mg/L; 线性范围 0.1~10 mg/L; 精密性: 10%~5.9% (亚硫酸二乙酸浓度 2~6 mg/L, $n=12$); 加标回收率: 88%~103% (尿中亚硫酸二乙酸浓度为 2~8 mg/L, $n=6$)。

8.2 火焰光度检测器的响应值的对数值与样品浓度的对数值呈直线关系, 所以要用双对数坐标纸或将数值先经对数处理后用直角坐标纸作标准曲线图。

8.3 火焰光度检测器开机后需要较长时间才能稳定, 所以仪器最好 24 h 连续运转, 同时每天需要作标准曲线和每测定 10 次样品加一次质控样或标准管进行检查。

8.4 样品不宜完全蒸干; 乙醚的转移、浓缩, 离心管的刻度准确与否以及定容时样液的温度所造成的体积影响都是测定误差的重要来源。

8.5 尿样的采集时间最好是采班后 2~10 h 的尿, 或下一个班晨尿。因其代谢产物在一般环境中不存在, 故样品受污染的可能性很小。

8.6 重氮甲烷气体有剧毒, 因此一定要在通风柜内操作; 重氮甲烷容易爆炸, 应严格按操作步骤进行, 实验时应戴防护眼镜。

8.7 质控样使用加标的模拟尿时可考察准确度和精密性。使用接触者尿和加标的正常尿时可考察精密性。但人尿不易久存。模拟尿只含人尿中的部分主要成分。

附录 A
亚硝基甲脒的制备
(参考件)

亚硝基甲脒(Nitrous methyl urea), 分子式: $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{CONH}_2$, 由盐酸甲胺和脒制备而成。

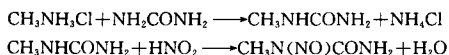
A1 仪器

- A1.1 圆底烧瓶, 100 mL。
- A1.2 烧杯, 500 mL。
- A1.3 球形回流冷凝管。
- A1.4 电炉, 1 000W。
- A1.5 玻璃搅拌棒。
- A1.6 温度计, -10C 。
- A1.7 抽滤漏斗($\phi 9\text{cm}$)及抽滤瓶。
- A1.8 水泵或真空泵。
- A1.9 熔点测定器。

A2 原料

所用原料均为化学纯或为工业品。

- A2.1 盐酸甲胺。
- A2.2 尿素。
- A2.3 亚硝酸钠。
- A2.4 冰块。
- A2.5 粗食盐粒。
- A2.6 硫酸, $\rho_{20}=1.84\text{g/mL}$ 。

A3 反应式**A4 步骤**

在圆底烧瓶中, 放入 10 g 盐酸甲胺, 加 40 mL 水, 再加 30 g 尿素。将烧瓶在电炉上和缓地回流 2 h 45 min, 再剧烈回流 15 min。将烧瓶放冷至室温。以 11 g 亚硝酸钠加入反应瓶的溶液中, 然后将反应瓶冷却至 0C 左右。

用冰盐水将大烧杯四面围住, 烧杯内放 60~100 g 冰块及 10 g 浓硫酸, 用玻璃棒在不停地搅拌下, 一面将放冷的反应液缓缓有控制地注入(虹吸的办法)盛有硫酸及冰块的烧杯中, 其注入速度以烧杯内温度不超过 0C 为准。也可再放适量冰块到烧杯中, 以保持烧杯内的反应温度。产品呈白色泡沫状浮在液面, 抽滤压干, 再用 5~10 mL 冷水洗一次, 再抽干, 真空干燥或阴凉处晾干。沸点 $123\sim 124\text{C}$ 。产率: 66%~72%。

A5 注意事项

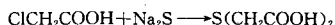
- A5.1 本品应冷藏保存, 在不太高的温度(盛夏室温)下有时会强烈分解, 因此更不能烘烤。

A5.2 本品无需进一步精制,抽干后即可使用,不必干燥处理。

附录 B
亚硫基二乙酸的制备
(参考件)

亚硫基二乙酸是由氯乙酸与硫化钠缩合而成。是制备噻嗪的中间体。

B1 反应式



B2 仪器

- B2.1 玻璃三角烧瓶,500 mL。
- B2.2 抽滤漏斗(ϕ 9cm)及抽滤瓶。
- B2.3 水泵或真空泵。
- B2.4 熔点测定器。
- B2.5 玻璃搅棒。

B3 试剂

化学纯或工业纯。

- B3.1 氯乙酸。
- B3.2 碳酸氢钠。
- B3.3 硫化钠。
- B3.4 冰块。
- B3.5 粗粒食盐。
- B3.6 硫酸, $\rho_{20}=1.84$ g/mL。
- B3.7 活性炭。

B4 反应步骤

将 94.5 g 氯乙酸放在盛有 150 mL 水的三角烧瓶中,周围用冰盐水致冷,加进 84 g 碳酸氢钠。将 132 g 无水硫化钠,放进另一盛有 185 mL 水的烧杯中。温度保持在 25~30℃ 的条件下,将烧杯内的硫化钠水溶液缓慢边搅边倒入上述三角烧瓶的反应液中。让反应液在冰水浴中静置 1 h 后,将 75 mL 浓硫酸缓慢注入反应液中,边加边搅动(温度保持在 25~30℃)。再用乙醚反复萃取亚硫基二乙酸(最好用流动式连续提取 36 h)。合并所有萃取的乙醚溶液,将醚蒸干,得粗制品,产率:88%。

用 200 mL 水及少量活性炭溶解并煮沸粗制品,过滤,浓缩到约 75 mL,放冰浴中,析出结晶,再抽滤并压干。用热水反复重结晶几次,就可得到熔点为 129℃ 的白色亚硫基二乙酸精品。

B5 参考文献

Bankanbus, Preparation of 1,4-thiazine. J. Am. Chem. Soc., 1948, 70: 684.

附加说明：

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由北京市劳动卫生职业病防治研究所负责起草。

本标准主要起草人陈震阳。

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。