

中华人民共和国卫生行业标准

尿中对硝基酚的高效液相色谱测定方法

WS/T 58—1996

Urine—Determination of p-nitrophenol—High
performance liquid chromatographic method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中对硝基酚(PNP)的高效液相色谱测定方法。本法最低检测浓度为 0.13 mg/L。
本标准适用于接触硝基苯的工人尿中对硝基酚的测定。

2 原理

尿样加酸加热水解后,用二氯甲烷萃取对硝基酚,反相 C_{18} 柱分离,紫外检测器检测,以保留时间定性,峰高定量。

3 仪器

- 3.1 高效液相色谱仪,紫外检测器。
- 3.2 恒温水浴箱,100℃。
- 3.3 蒸馏器,2 000 mL。
- 3.4 微量注射器,5 μ L。
- 3.5 具塞比色管,25 mL。
- 3.6 分液漏斗,60 mL。
- 3.7 容量瓶,10 mL、100mL。
- 3.8 量筒,10 mL、50 mL。
- 3.9 聚乙烯塑料瓶,50~100 mL。
- 3.10 尿比重计。

4 试剂

本标准所用试剂除另有说明者外,均为分析纯级试剂。

- 4.1 实验用水,为去离子水经重蒸馏者。
- 4.2 盐酸, $\rho_{20}=1.19$ g/mL。
- 4.3 二氯甲烷。
- 4.4 甲醇,重蒸馏的。
- 4.5 对硝基酚。
- 4.6 对硝基酚标准溶液:准确称取 0.100 0 g 对硝基酚于 100 mL 容量瓶中,用二氯甲烷溶解并稀释至刻度,此液 1 mL 相当于 1 mg 对硝基酚。临用时,取 1 mL 稀释至 100 mL,得 1 mL 相当于 10 μ g 对硝基酚的标准溶液。
- 4.7 质控样:用加标的模拟尿、接触者混合尿或加标正常人混合尿作质控样。

WS/T 58—1996

5 采样、运输和保存

用聚乙烯瓶收集接触硝基苯工人的班后尿,在 10℃ 以下运输。测量比重后,按 100 mL 尿样 3~4 滴的比例加盐酸(4.2),在 4℃ 下可保存二周。

6 分析步骤

6.1 仪器操作条件

色谱柱:柱长 25 cm,内径 4.6 mm,不锈钢柱。

柱填料: C_{18} 键合固定相,5~6 μm 。

柱温:55℃。

流动相:甲醇+水=50+50。

流速:1.0 mL/min。

检测器波长:318 nm。

6.2 空白试验

取 10 mL 正常人混合尿与样品同时测定。

6.3 样品处理

取 10 mL 尿样于具塞比色管中,加 2 mL 盐酸(4.2),混匀,加盖。置于沸水浴中加热 1 h。取出冷至室温,过滤。将滤液转入分液漏斗中,用二氯甲烷萃取三次(10 mL、5 mL、5 mL),合并萃取液,加二氯甲烷到 20 mL。

6.4 标准曲线的绘制

取 5 支 10 mL 容量瓶,按下表配制标准管。

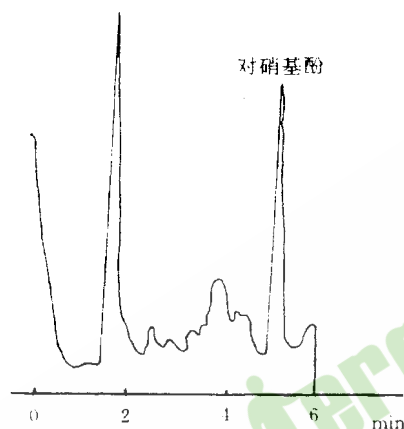
对硝基酚标准管的配制

管 号	0	1	2	3	4
对硝基酚标准溶液(4.6),mL	0	0.5	2.5	5.0	10
二氯甲烷,mL	10	9.5	7.5	5.0	0
对硝基酚浓度,mg/L	0	0.5	2.5	5.0	10

取以上各管中溶液各 5 μL 注入高效液相色谱仪,按操作条件(6.1)测定,重复进样三次。以对硝基酚浓度为横坐标,对应的峰高平均值为纵坐标,绘制标准曲线。

6.5 样品测定

取样品萃取液(6.3)及空白萃取液(6.2)各 5 μL 注入高效液相色谱仪,按操作条件(6.1)测定,以保留时间定性,峰高定量。对硝基酚色谱图见下图。在测定前后以及每测定 10 个样品后,测定一次质控样。



现场尿样的色谱图

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)。

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

7.2 按式(2)计算尿中对硝基酚的浓度。

$$X = 2c \cdot k \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中: X ——尿中对硝基酚的浓度,mg/L;

c ——由标准曲线查得的样液中对硝基酚的浓度,mg/L。

8 说明

8.1 本法的最低检测浓度为 0.13 mg/L(空白值的 3 倍标准差);测定范围为 0~10 mg/L;精密性:当尿中对硝基酚的浓度为 0.9~2.0 mg/L 时,变异系数分别为 4.0%~5.8%;加标回收率为 87.0%~91.7%($n=6$)。

8.2 采集尿样时,工人要脱离生产现场,脱下工作服,洗净手、臂及面部,以防硝基酚类的污染。采样后应尽早加酸低温保存。

8.3 测定尿中对硝基酚总量时,必须将结合态的对硝基酚水解,尿样加酸后,于沸水浴中加热 1 h,即可水解完全。

8.4 流动相的配比及流速可根据各自的仪器条件选择。

8.5 质控样如使用标准尿样或加标的模拟尿时,可考察准确度和精密性。如使用接触者尿或加标的正常尿时,可考察精密性。但人尿不宜久存。模拟尿只含人尿的大量成分。

附加说明:

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由辽宁省劳动卫生研究所负责起草。

本标准主要起草人姜汉硕。

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。