

尿中苯酚的气相色谱法

WS / T 49-1996、WS / T 50-1996

1 原理 尿样经加热酸解，用乙醚萃取苯酚，经色谱柱分离，氢火焰离子化检测器检测，以保留时间定性，峰高或峰面积定量。

2 仪器

2.1 具盖聚乙烯塑料瓶，500ml。

2.2 尿比重计。

2.3 具塞离心管，10ml。

2.4 电热恒温水浴。

2.5 容量瓶，10ml。

2.6 气相色谱仪，氢焰离子化检测器。仪器操作条件：

色谱柱1：2m×3mm，Chromosorb W-AW-DMCS:PBOB:磷酸=100:15:0.5；柱温：每次开始140℃，恒温1h，降至112℃，稳定后，开始测定；汽化室温度：180℃；检测室温度：160℃；载气(氮气)流速：20ml/min。

色谱柱2：2.5m×3mm，Chromosorb W HP:FFAP=100:10；柱温：165℃；汽化室温度：180℃；检测室温度：180℃；载气(氮气)流速：45ml/min。

3 试剂

3.1 无水乙醚，用前重蒸馏。

3.2 双-(对-辛氧基苯甲酸)对苯二酚酯(PBOB)，液晶固定相。

3.3 FFAP，色谱固定相。

3.4 Chromosorb W-AW-DMCS和Chromosorb W HP，色谱担体，80~100目。

3.5 盐酸。

3.6 苯酚标准溶液：称取苯酚(新蒸馏)0.0125g，溶于少量无水乙醚中，定量转移至50ml容量瓶中，用无水乙醚稀释至刻度。此溶液0.25mg/ml苯酚标准溶液。

4 样品的采集、运输和保存 用聚乙烯塑料瓶收集班末尿约50ml，尽快测量比重；室温下运输。置于4℃冰箱中可保存2周。

5 分析步骤

5.1 样品处理：取5.0ml尿样于具塞试管中，加入1ml盐酸，摇匀，加塞。于90℃水浴恒温1h后，取出冷至室温，加水稀释至10ml。加3.0ml无水乙醚，加塞振荡1min，静置分层，将乙醚层补足体积至3.0ml，必要时离心。乙醚层供测定。

5.2 标准曲线的绘制：取6只10ml容量瓶，分别加入0.0、0.60、1.20、2.40、4.80、7.20ml标准溶液，各加无水乙醚至10.0ml，配制成0、15、30、60、120、180 μg/ml苯酚标准系列。参照仪器操作条件，将气相色谱仪调节至最佳测定状态。取5 μl标准系列溶液进样，测量峰高或峰面积。以苯酚浓度(μg/ml)对相应的峰高或峰面积绘制标准曲线。

5.3 样品测定：用测定标准系列的仪器操作条件，测定样品溶液。由标准曲线得苯酚的浓度(μg/ml)。

6 计算 按式(1)计算尿中苯酚的浓度：

$$C = [(c \times 3.0) / 5.0] \times k \quad (1)$$

式中：C——尿中苯酚的浓度，mg/L；c——由标准曲线得苯酚浓度，μg/ml；3.0——无水乙醚体积，ml；5.0——所取尿样体积，ml；k——尿样换算成标准比重下的浓度校正系数。

7 说明

7.1 本法最低检测浓度为0.1mg / L; 测定范围0~200mg / L; 相对标准偏差为1.0%~3.1 % (酚浓度为5~40mg / L, n=6), 加标回收率为77.5 %~81.0% (尿样本底浓度为6.9, 34.0mg / L, 加标量为10~40mg/L, n=2, 以苯酚标准水溶液经酸化、提取的乙醚液为基准)。

7.2 对正常人, 一般都取晨尿分析。对接触者, 因开始接触苯后尿酚浓度迅速上升, 脱离接触后又很快下降, 故取班末尿为宜。

7.3 可采用内标法定量, 以硝基苯作内标物, 以水配制成500 μ g/ml硝基苯溶液, 于样品液中加入0.2ml。内标法的优点是可以校正乙醚挥发的损失。乙醚在水中有一定的溶解度, 且易挥发, 所以提取后须将乙醚层补足至一定体积, 萃取后的样品及接触乙醚的器皿要放在冰瓶中冷藏待用。乙醚的色谱峰有时很宽, 影响酚峰形的对称, 进样时仔细操作可使乙醚峰变窄。可用异丙醚替代无水乙醚, 异丙醚不与水互溶, 沸点高, 色谱峰窄, 但价格较贵。

7.4 液晶柱对沸点相近、难分离的芳烃异构体具有良好的分离效果, 可分离苯酚及邻、间、对位甲酚, 不仅适用接触苯者的生物监测, 也适用于接触甲酚者的生物监测。FFAP柱可将苯酚与对甲酚分离, 分离度为1.25。

7.5 本法由中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所线引林同志、上海医科大学公共卫生学院陆培坤等同志研制。标准编号为WS / T 49-1996、WS / T 50-1996。