

# 中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 254—2014

GBZ/T 254—2014

## 尿中苯巯基尿酸的高效液相色谱测定方法

Determination of S-phenylmercapturic acid in urine by high performance liquid chromatography

中华人民共和国

国家职业卫生标准

尿中苯巯基尿酸的高效液相色谱测定方法

GBZ/T 254—2014

\*

中国标准出版社出版发行  
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)  
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235  
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷  
各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 12 千字  
2014年12月第一版 2014年12月第一次印刷

\*

书号: 155066 · 2-27054 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换  
版权专有 侵权必究  
举报电话:(010)68510107



GBZ/T 254-2014

2014-07-23 发布

2014-12-15 实施

中华人民共和国  
国家卫生和计划生育委员会发布

## 前　　言

根据《中华人民共和国职业病防治法》制定本标准。

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准起草单位和主要起草人：

——本标准第 3 章尿中苯巯基尿酸的高效液相色谱方法：

主要起草单位：武汉科技大学医学院、湖北中医药大学、鄂州市疾病预防控制中心。

主要起草人：宋世震、梅勇、叶玉杰、胡霞敏、叶方立、陈斯琪、姚群峰、谢云、吴三明。

——本标准第 4 章尿中苯巯基尿酸的高效液相色谱-质谱方法：

主要起草单位：武汉科技大学医学院、武汉大学化学学院、湖北中医药大学。

主要起草人：宋世震、梅勇、叶玉杰、胡霞敏、叶方立、余琼卫、孙丹陵。

- 4.3.3 乙腈,色谱纯。
- 4.3.4 甲醇,色谱纯。
- 4.3.5 盐酸,分析纯。
- 4.3.6 硫酸(分析纯)溶液,50%(体积分数)。
- 4.3.7 氢氧化钾(分析纯)溶液,7.8 mol/L。
- 4.3.8 萃取液,氯仿:异丙醇=5:1(体积比)。
- 4.3.9 氮气(≥95%)。

4.3.10 标准溶液:精密称取 40 mg SPMA 标准品置于 100 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,充分摇匀,此溶液为 400 mg/L SPMA 贮备液,于 4 ℃保存备用,可保存期限 30 d,临用前用甲醇稀释到所需浓度的标准溶液;或用国家认可的标准溶液配制。

#### 4.4 样品的采集、运输和保存

用聚乙烯塑料瓶收集接触苯作业的工人班后尿 50 mL,按 100:1 的体积比例加入盐酸;另留取 5 mL 不加酸尿置于试管用作尿中肌酐测定。尿样采集后,最好在 48 h 内检测。若需保存尿样,在 4 ℃ 条件下可保存 2 周,在 -20 ℃ 冰箱冷冻可保存 4 个月。

#### 4.5 分析步骤

4.5.1 按 WS/T 97 尽快测定尿中肌酐浓度。

4.5.2 样品处理:分析时将尿样从冰箱取出于室温下解冻,取约 5.0 mL 尿样于 10 mL 具塞离心管中,5 000 r/min 离心 15 min,取上清液 2.0 mL 于 15 mL 具塞离心管中,加入 2.0 mL 水,涡旋约 15 s,加 0.8 mL 硫酸溶液,涡旋约 30 s,10 min 内加入 0.8 mL 氢氧化钾溶液,涡旋约 30 s,加入 5.0 mL 萃取液,盖紧磨口盖,在涡旋混合器上涡旋约 50 s,4 000 r/min 离心 10 min,分层清晰后,保留有机相,将上层水相转移至另一 15 mL 离心管中,再加入 5.0 mL 萃取液进行第 2 次萃取,合并两次萃取液,水浴 50 ℃ 氮气流下挥干,残渣用 100 μL 甲醇涡旋溶解,5 000 r/min 离心 10 min,取 5 μL 甲醇上清液进样测定。

4.5.3 标准曲线绘制:用甲醇稀释标准溶液成 0.0 μg/L~320.0 μg/L 苯巯基尿酸标准系列。参照仪器操作条件,将高效液相色谱-质谱仪调节至最佳测定状态,进样 5 mL,测定各标准系列。每个浓度重复测定 3 次。由测得的峰高或峰面积均值对相应的苯巯基尿酸浓度(μg/L)绘制标准曲线或计算回归方程。

4.5.4 样品测定:用测定标准系列的操作条件测定上述处理好的样品和空白对照溶液,测得样品的峰高或峰面积值减去空白对照的峰高或峰面积值后,由标准曲线得苯巯基尿酸的浓度(μg/L)。

#### 4.6 计算

按式(2)计算尿中苯巯基尿酸的校正浓度:

$$c = \frac{c_1}{c_2} \quad \dots \dots \dots \dots \dots \dots \dots \quad (2)$$

式中:

$c$  ——尿中苯巯基尿酸浓度,单位为微克每克肌酐(μg/g);

$c_1$  ——测得的尿样中苯巯基尿酸浓度,单位为微克每升(μg/L);

$c_2$  ——尿中肌酐(Cr)浓度,单位为克每升(g/L)。

#### 4.7 说明

4.7.1 在信噪比 S/N>10 时,本法的最低检测浓度为 10 μg/L;在信噪比 S/N=3 时,最低检出浓度为

## 尿中苯巯基尿酸的高效液相色谱测定方法

### 1 范围

本标准规定了尿中苯巯基尿酸浓度的检测方法。

本标准适用于职业接触苯作业工人尿中苯巯基尿酸浓度的测定。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GBZ/T 173 职业卫生生物监测质量保证规范

GBZ/T 210.5 生物材料中化学物质的测定方法 第 5 部分:生物材料中化学物质的测定方法

WS/T 97 尿中肌酐分光光度测定方法

### 3 尿中苯巯基尿酸的高效液相色谱法

#### 3.1 原理

尿中苯巯基尿酸(S-phenylmercapturic acid, SPMA)经萃取后,经十八烷基硅烷键合硅胶柱(Octadecylsilyl, ODS)柱分离,紫外检测器检测,以 SPMA 峰保留时间定性,峰高或峰面积定量。

#### 3.2 仪器

##### 3.2.1 高效液相色谱仪,紫外检测器。

仪器操作参考条件:

- a) 色谱柱:ODS(150 mm×4.6 mm,5 μm);
- b) 保护柱:ODS(10 mm×4.6 mm,5 μm);
- c) 流动相:A 相:乙腈;B 相:乙腈 100 mL,甲醇 24 mL,用 0.5% 三乙胺水溶液(用磷酸调 pH=2.16)定容至 1 000 mL;梯度洗脱:0 min~34 min 用 100% B 相,34 min~41 min 用 A 相:B 相(10:90),41 min~49 min 用 100% B 相;流速:2.0 mL/min;
- d) 柱温:35 ℃;
- e) 进样量:20 μL;
- f) 检测波长:205 nm。

##### 3.2.2 分光光度计。

##### 3.2.3 聚氯乙烯塑料瓶:100 mL。

##### 3.2.4 离心机:0 r/min~5 000 r/min。

##### 3.2.5 具塞离心管:10 mL、15 mL。

##### 3.2.6 微量注射器:25 μL。