

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 56—1996

尿中对氨基酚的高效液相色谱测定方法

Urine—Determination of p-aminophenol—High
performance liquid 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

尿中对氨基酚的高效液相色谱测定方法

WS/T 56—1996

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

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中对氨基酚(PAP)的高效液相色谱测定方法。本法最低检测浓度为 0.5 mg/L。本标准适用于接触苯胺的工人尿中对氨基酚的测定。

2 原理

尿样加盐酸加热水解后,酸性下用乙酸乙酯萃取,除去部分干扰物,然后在中性溶液中,用乙酸乙酯萃取尿样中对氨基酚,反相 C_{18} 柱分离,在 254 nm 波长下测定。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。
- 3.3 全玻璃磨口蒸馏器,2 L。
- 3.4 微量注射器,10 μ L。
- 3.5 容量瓶,100mL。
- 3.6 具塞刻度试管,25 mL。
- 3.7 玻璃瓶,200~500 mL。
- 3.8 尿比重计。

4 试剂

本标准所用试剂,除另有说明者外,均为分析纯级试剂。

- 4.1 实验用水,为去离子水或经全玻璃蒸馏器重蒸馏的水。
- 4.2 盐酸,优级纯, $\rho_{20}=1.19$ g/mL。
- 4.3 磷酸氢二钾。
- 4.4 甲醇,重蒸的。
- 4.5 乙酸乙酯。
- 4.6 对氨基酚,升华精制,避光保存。
- 4.7 对氨基酚标准溶液:准确称取 8.0 mg 精制对氨基酚(4.6),加水溶解并加入 4 滴盐酸(4.2),加水稀释至 100 mL。此溶液 1 mL 相当于 80 μ g 对氨基酚。
- 4.8 质控样:用加标的模拟尿、接触者混合尿或加标的正常人混合尿作质控样。

5 采样、运输和保存

使用硬质玻璃瓶,收集接触苯胺工人的班末或班后 2 h 内的尿。尽快测定比重后,按 100 mL 尿样 4~5 滴的比例加入盐酸(4.2),4℃下可保存 4 天。

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:反相 C_{18} 键合固定相,5 μm 。

柱温:50℃。

流动相:甲醇+水=30+70(V/V)。

流速:1.0 mL/min。

检测器波长:254 nm。

6.2 空白试验

取 2 mL 正常人混合尿样与样品同时测定。

6.3 样品处理

6.3.1 取 2 mL 尿样于 25 mL 试管中,加 1 mL 水,1 mL 盐酸(4.2),摇匀,加盖。

6.3.2 放在沸水浴中加热 1 h,取出冷至室温,加水补足体积至 4 mL。加 5 mL 乙酸乙酯萃取尿中部分干扰物质,再加 5 mL 乙酸乙酯重复萃取一次,弃掉有机相。于水相中加入 4 g 磷酸氢二钾,摇匀。加入 5 mL 乙酸乙酯萃取对氨基酚。静置分层,轻轻摇动,使萃取液中的棕色悬浮物下沉。上清液供分析用。

6.4 标准曲线的绘制

6.4.1 取 4 支 25 mL 试管,按下表配制标准管。

对氨基酚标准管的配制

管号	1	2	3	4
正常人混合尿, mL	2.0	2.0	2.0	2.0
对氨基酚标准溶液(4.7), mL	0	0.1	0.5	1.0
水, mL	1.0	0.9	0.5	0
相当于尿中对氨基酚浓度 $\mu\text{g/mL}$	0	4.0	20.0	40.0

6.4.2 以下操作按 6.3.2 条进行。

6.4.3 取 10 μL 萃取物上清液进高效液相色谱仪,按操作条件(6.1)测定。重复进样三次。

6.4.4 以对氨基酚浓度为横坐标,各浓度对应的峰高平均值为纵坐标,绘制标准曲线。

6.5 样品测定

6.5.1 取 10 μL 样品及空白样萃取物的上清液(6.3、6.2)分别注入高效液相色谱仪中,按操作条件(6.1)测定。

6.5.2 用保留时间定性,峰高定量。对氨基酚色谱图见下图。在测定前后以及每测定 10 个样品后,测定一次质控样。