

# 中华人民共和国卫生行业标准

## 尿中 2-硫代噻唑烷-4-羧酸的 高效液相色谱测定方法

WS/T 40—1996

Urine—Determination of 2-thiothiazolidine-  
4-carboxylic acid—High performance liquid  
chromatographic method

### 1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中 2-硫代噻唑烷-4-羧酸的高效液相色谱测定方法。

本法最低检测浓度为 8  $\mu\text{g/L}$ 。

本标准适用于接触二硫化碳工人尿中 TTCA 的测定。

### 2 原理

尿样经盐酸酸化后,TTCA 被乙醚萃取,经高效液相色谱反相  $\text{C}_{18}$  柱分离,紫外检测器 273 nm 检测。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 电热恒温水浴。
- 3.3 液体快速混匀器。
- 3.4 微量注射器,20  $\mu\text{L}$ 。
- 3.5 移液管,1 mL,5 mL。
- 3.6 容量瓶,100 mL。
- 3.7 具塞试管,10 mL。
- 3.8 聚乙烯塑料瓶,100 mL。
- 3.9 尿比重计。

### 4 试剂

本法所用试剂除另有说明外,均为分析纯试剂。

- 4.1 实验用水,去离子水经全玻璃蒸馏器重蒸馏后,加盖保存。
- 4.2 盐酸, $\rho_{20}=1.19 \text{ g/mL}$ 。
- 4.3 冰乙酸, $\rho_{20}=1.05 \text{ g/mL}$ 。
- 4.4 甲醇,优级纯或经重蒸馏的分析纯试剂。
- 4.5 乙醚,使用新的试剂,否则临用前须经中性氧化铝柱除去过氧化物。
- 4.6 盐酸溶液,2 mol/L。
- 4.7 TTCA(2-硫代噻唑烷-4-羧酸):制备方法见附录 A。

4.8 TTCA 标准溶液:准确称取 40.0 mg TTCA(4.7),于 100 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度。此溶液 1 mL=400  $\mu$ g TTCA。再将其用水稀释 10 倍,浓度为 1 mL=40  $\mu$ g TTCA。置 4℃ 冰箱可保存两周。

4.9 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

用聚乙烯塑料瓶采集约 50 mL 班末尿,尽快测定比重后,于常温下运输;但夏季运输需要冷藏,于 -8℃ 下可保存一周。

## 6 分析步骤

### 6.1 仪器操作条件

6.1.1 色谱柱:反相  $C_{18}$  键合硅胶柱。

6.1.2 流动相:甲醇+水+冰乙酸=14.5+84.5+1;

流速:1.5 mL/min。

6.1.3 紫外检测波长:273 nm。

### 6.2 空白试验

用正常人混合尿样按 6.3 条处理、6.5 条测定。

### 6.3 样品处理

取 1 mL 经离心后的尿样置于具塞试管中,加入 0.1 mL 盐酸溶液(4.6)及 5 mL 乙醚,于液体快速混匀器上振摇 2 min。于 3 000 r/min 离心 10 min 后,将乙醚溶液全量转移至另一试管中,置 40℃ 水浴上吹氮至干,加入 200  $\mu$ L 甲醇溶解残渣。

### 6.4 标准曲线的绘制

取 5 支具塞试管,按下表配制标准管。

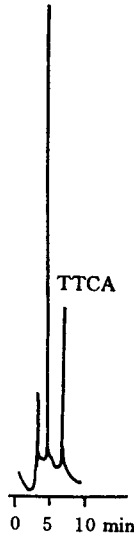
TTCA 标准管的配制

管号	1	2	3	4	5
TTCA 标准溶液(4.8), mL	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
水, mL	0.4	0.3	0.2	0.1	0
TTCA 含量, $\mu$ g	4	8	12	16	20

取上述标准管中溶液各 20  $\mu$ L,进 HPLC 测定。以 TTCA 含量( $\mu$ g)为横坐标,色谱峰高为纵坐标,绘制标准曲线。

### 6.5 样品测定

取经 6.3 条处理的样品液 20  $\mu$ L,进 HPLC 进行测定。同时测定空白样(6.2)。其色谱图见下图。在测定前后及每测定 10 个样品后,测定一次质控样。



TTCA 接触者尿样色谱图

7 计算

7.1 按式(1)计算尿样换算成标准比重(1.020)下浓度的校正系数  $k$ 。

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

7.2 按式(2)计算尿中 TTCA 的浓度。

$$X = 10 \times c \cdot k \dots\dots\dots(2)$$

式中:  $X$ ——尿中 TTCA 浓度,mg/L;  
 $c$ ——从标准曲线查得的 TTCA 浓度, $\mu\text{g}/20 \mu\text{L}$ 。

8 说明

8.1 本法检测限 0.8 ng,取尿样 1 mL 时,最低检测浓度为 8  $\mu\text{g}/\text{L}$ 。线性范围:0~8 mg/L。精密度: CV=0.52%~3.3%(TTCA 含量 0~0.8  $\mu\text{g}$ ,  $n=12$ )。准确度:现场样品加标回收率=78.0%~91.0%(TTCA 本底浓度为 1.73~2.84 mg/L,加标浓度为 2~16 mg/L,  $n=2$ )。

8.2 对接触者应取班末尿分析。取样前工人须脱离工作场所,洗净手,以防样品污染。

8.3 影响测定的因素

8.3.1 本法将离心的尿样经乙醚提取后再次离心,使乙醚层便于分离、转移,从而保证了分析的准确度。

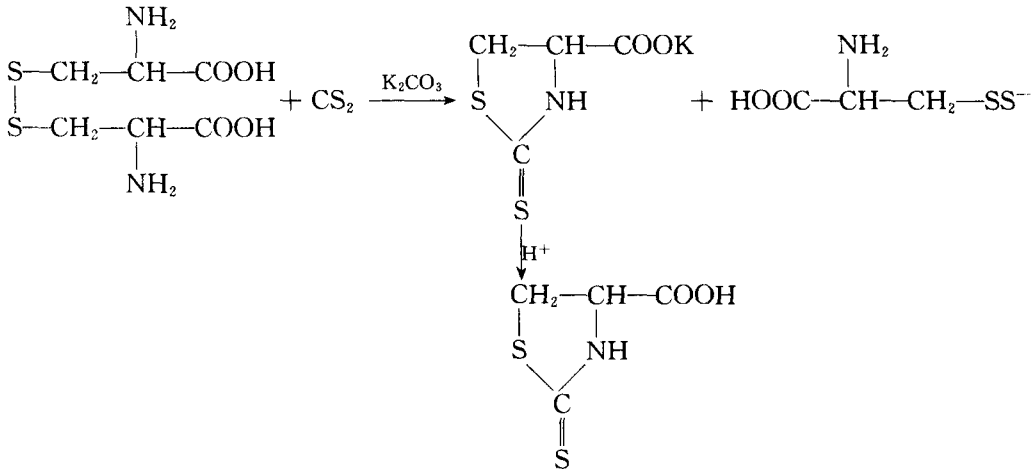
8.3.2 本法将国外文献的梯度洗脱条件改为等度洗脱,在色谱仪只有一个泵的情况下亦可使用,便于在国内推广。亦可采用两种流动相切换洗脱(A 液:甲醇+冰乙酸+水=0.5+95+4.5;B 液:甲醇+冰乙酸+水=95+0.5+4.5),洗脱顺序:0~3.5 min,A 洗脱;3.5~6.5 min,B 洗脱;6.5~10 min,A 洗脱。切换洗脱可使尿中杂质较快流出,同时亦适于单泵操作。

8.3.3 色谱柱亦可采用径向加压柱 Radial-PAK  $C_{18}$ ,分离效果良好。

8.4 质控样用加标的模拟尿和加标的正常人混合尿时,可考察测定的准确度及精密度。用接触者混合尿时则只能考察精密度。但人尿样品不能久存。模拟尿则只含人尿的大量成分。

附录 A  
TTCA 标准品的制备  
(补充件)

用 L-胱氨酸在碳酸钾存在下与二硫化碳反应 24 h。酸化后用稀硝酸和三氯甲烷-丙酮两次重结晶得纯品。



合成方法: 碳酸钾 1.12 g (8 mmol) 溶解在 6 mL 水中, 加入 L-胱氨酸 0.96 g (4 mmol) 温热至全溶。冷却至室温后加二硫化碳 1.2 mL (16 mmol), 室温 (22~25℃), 强烈搅拌 24 h, 用硅胶 G 薄层控制反应终点, 反应完全后用盐酸酸化至 pH=1。反应物以 100 mL 乙醚分三次提取, 合并乙醚提取液以 3 mL 10% 盐酸洗涤, 分出乙醚层用无水硫酸镁干燥。干燥后的乙醚提取液在 40℃ 左右回收乙醚, 真空下蒸干, 得到淡黄色 TTCA 松散的粉末 0.74 g 粗品。此粗品用 6 mL 1+1 稀盐酸加热溶解, 少许活性炭脱色, 趁热过滤, 滤液冷却析出无色针状结晶 0.5 g (熔点 180~181℃)。收率 76.6%。

附加说明:

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所负责起草。

本标准主要起草人李晓立、沈惠麒。

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。