

中华人民共和国卫生行业标准

尿中 4-氨基-2,6-二硝基甲苯的 气相色谱测定方法

WS/T 59—1996

Urine—Determination of 4-amino-2,6-dinitrotoluene
—Gas chromatographic method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了尿中 4-氨基-2,6-二硝基甲苯的气相色谱测定方法。本法最低检测浓度为 4 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。
本标准适用于接触三硝基甲苯(TNT)的工人尿中 4-氨基-2,6-二硝基甲苯的测定。

2 原理

尿样加盐酸加热水解后,在 pH 7~8 用甲苯萃取尿样中 4-A,进气相色谱仪测定。采用 OV-17 柱分离,电子捕获检测器检测,以保留时间定性,峰面积定量。

3 仪器

- 3.1 气相色谱仪,电子捕获检测器。
- 3.2 旋涡混合器。
- 3.3 容量瓶,10 mL。
- 3.4 具塞试管,5 mL。
- 3.5 微量注射器,5 μL 。
- 3.6 聚乙烯塑料瓶,50~100 mL。
- 3.7 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。

- 4.1 实验用水:为重蒸馏水或具有同等纯度的去离子水。
- 4.2 盐酸, $\rho_{20}=1.19\text{ g/mL}$ 。
- 4.3 碳酸氢钠。
- 4.4 无水乙醇。
- 4.5 甲苯。
- 4.6 2,6-二硝基甲苯,化学纯。内标物。
- 4.7 2,6-二硝基甲苯溶液:称取 50 mg 2,6-二硝基甲苯溶于甲苯中,并稀释至 100 mL,混匀。逐级稀释成含内标 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甲苯溶液。
- 4.8 4-氨基-2,6-二硝基甲苯(4-A)标准品。
- 4.9 4-氨基-2,6-二硝基甲苯标准溶液:取标准品以无水乙醇为溶剂,配成浓度为 1 mL 相当于 2 mg 4-A 的贮备液。临用前,以甲苯或含内标 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甲苯溶液(4.7)稀释成 1 mL 相当于 20 μg 4-A 的标

准溶液。

4.10 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

用聚乙烯塑料瓶收集约 100 mL 接触 TNT 工人的班后尿,尽快测量比重,每 100 mL 尿加 10 mL 盐酸(4.2)。夏季运输时最好冷藏。分析前放普通冰箱内,可保存两周。

6 分析步骤

6.1 仪器操作条件

色谱柱:柱长 1.6 m,内径 3.2 mm,玻璃柱。

OV-17: Shimalite W(AW-DMCS)201D(80~100 目)=1.5:100。

柱温:220℃。

程序升温:初温为 200℃,保持 0.4 min 以后以 10℃/min 的速率升温至 220℃,然后再以 5℃/min 的速率升至 240℃,保持 1 min,分析结束。

载气(氮气):50 mL/min。

6.2 空白试验

取正常人混合尿按照样品处理(6.3)的操作同样处理,与样品同时进行测定。

6.3 样品处理

取 1 mL 尿样于 5 mL 具塞试管中,加入 0.1 mL 浓盐酸,混合均匀(已加盐酸保存的尿样取 1.1 mL),于 100℃ 水浴中放置 1 h。冷却后,用过量固体碳酸氢钠(4.3)调至 pH 7~8,然后用 1 mL 甲苯(4.5)[或含内标的甲苯溶液(4.7)]萃取,在旋涡混合器上振摇 3 min,放置分层,上层甲苯溶液供分析用。

6.4 标准曲线的绘制

取 7 个容量瓶,按下表配制标准管。

4-A 标准管的配制

| 管 号 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|------------------|-------|------|------|------|------|------|-------|
| 4-A 标准溶液(4.9),mL | 0 | 0.25 | 0.50 | 1.00 | 2.50 | 5.00 | 10.00 |
| 甲苯[或含内标(4.7)],mL | 10.00 | 9.75 | 9.50 | 9.00 | 7.50 | 5.00 | 0.00 |
| 4-A 浓度,μg/mL | 0 | 0.5 | 1 | 2 | 5 | 10 | 20 |

各取 2 μL 以上标准管中的溶液进气相色谱仪,按仪器操作条件(6.1)测定,重复进样三次。以 4-A 浓度为横坐标,各浓度峰面积(或与内标峰面积之比)平均值为纵坐标,绘制标准曲线。

6.5 样品测定

取 2 μL 按 6.3 条处理得到的甲苯萃取液进样,按仪器操作条件(6.1)测定。用保留时间定性,峰面积(或与内标峰面积之比)定量。在测定前后以及每测定 10 个样品后,测定一次质控样。

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 。

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

7.2 按式(2)计算尿中 4-氨基-2,6-二硝基甲苯的浓度。

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

式中: X ——尿中 4-氨基-2,6-二硝基甲苯的浓度,mg/L;

c ——由标准曲线查得的 4-氨基-2,6-二硝基甲苯浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

8 说明

8.1 本法的检测限为 7.2×10^{-12} g。4-A 浓度在 0~50 mg/L 范围内进样 2 μL , 浓度与峰面积(或峰面积之比)呈线性关系。在应用中, 标准曲线的上限为 20 mg/L, 已能满足分析要求。当尿中 4-A 浓度为 0.90, 2.71, 5.42 mg/L 时, 批内变异系数分别为 2.0%, 2.2% 和 1.3%, 批间变异系数分别为 4.1%, 3.7% 和 3.4% ($n=6$)。尿中 4-A 浓度为 0.94~5.41 mg/L 时, 加标回收率为 85%~100%。

8.2 采集班后尿样时, 工人要脱离生产场所, 换下工作服, 洗净手、臂及面部, 以防 TNT 的污染。采样后应尽早加酸在冰箱中保存。

8.3 1 mL 尿样加 0.1 mL 盐酸在 100°C 加热 1 h 时, 4-A 水解量最大。

乙醚、苯和甲苯对 4-A 的萃取效果均佳, 但乙醚易挥发, 精密度较差, 苯的毒性较大, 本法采用沸点较高毒性较小的甲苯为 4-A 的萃取剂, 对 4-A 的一次萃取率为 94%~100%。萃取后放置 1~2 min, 甲苯萃取液轻度乳化, 取上清液三日内分析。

8.4 OV-17 固定液的分离效果好, 峰形好, 且不会污染检测器。同类型国产担体亦适用。色谱柱升温方式确定为等温和程序升温两种, 以利应用, 两者分离效果均佳, 但程序升温所得的峰形更好。如仪器不稳定, 应采用内标法定量。

测定空气中 TNT 的 OV-17+QF-1 通用柱亦可使用, 但 QF-1 的最高使用温度为 250°C, 柱温需严格控制, 谨防污染检测器。

8.5 尿样加酸在 100°C 下水解 1 h 后, 产生的极性化合物, 不干扰测定。

8.6 职业接触 TNT 工人班后尿在 OV-17 色谱柱上分离得 TNT、4-A、2-A(2-氨基-4,6-二硝基甲苯) 和 5 个未知物。本方法亦适用于测定职业接触 TNT 工人尿中 TNT 及其他代谢物 2-A。

8.7 质控样使用加标的模拟尿时可考察准确度和精密度。使用接触者尿或加标的正常尿时可考察精密度。但人尿不易久存。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。

本标准由上海医科大学预防医学研究所负责起草。

本标准主要起草人潘志擎。

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。