

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T XXX—XXXX
代替 WS/T 63—1996

尿中亚硫基二乙酸的测定 离子色谱方法

Standard for the determination of sulfinodiacetic acid in urine—Ion chromatography method

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

本标准代替WS/T 63—1996《尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法》，与WS/T 63—1996相比，主要技术变化如下：

——更改了尿中亚硫基二乙酸的测定方法，由气相色谱法变更为离子色谱法。

请注意本标准的某些内容可能涉及专利。本标准的发布机构不承担识别专利的责任。

本标准由国家卫生健康标准委员会职业健康标准专业委员会负责技术审查和技术咨询，由中国疾病预防控制中心负责协调性和格式审查，由国家卫生健康委职业健康司负责业务管理，法规司负责统筹管理。

本标准起草单位：北京市化工职业病防治院、中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所、国家卫生健康委职业安全卫生研究中心、深圳市职业病防治院。

本标准主要起草人：潘兴富、刘晓东、牛东升、丁晓文、赵玮、崔师伟、丁春光、郑玉桥、李添娣、负建培。

本标准及其所代替标准的历次版本发布情况为：

——1996年首次发布为WS/T 63—1996；

——本次为第一次修订。

尿中亚硫基二乙酸的测定 离子色谱方法

1 范围

本标准规定了测定尿中亚硫基二乙酸（TDGA）的离子色谱法。
本标准适用于职业接触亚硫基二乙酸人群尿中亚硫基二乙酸的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 173-2006	职业卫生生物监测质量保证规范
GBZ/T 210.5	职业卫生标准制定指南 第5部分：生物材料中化学物质测定方法
GBZ/T 224	职业卫生名词术语
GBZ/T 295	职业人群生物监测方法 总则

3 术语和定义

GBZ/T 224和GBZ/T 295界定的术语和定义适用于本文件。

4 原理

尿液样品经固相萃取小柱净化，经阴离子交换色谱柱分离，电导检测器检测，以保留时间定性，测定峰面积或峰高，由外标标准曲线法进行定量。

5 仪器

- 5.1 纯水机。
- 5.2 离心机。
- 5.3 涡旋振荡器。
- 5.4 尼龙滤膜过滤头，水系，0.22 μm 。
- 5.5 电子天平，万分之一。
- 5.6 尿比重计。
- 5.7 ODS-C₁₈固相萃取小柱（200 mg，3 mL），或等效萃取柱。
- 5.8 离心管：50 mL、15 mL。
- 5.9 离子色谱仪，配备阴淋洗液自动发生器、电导检测器和阴离子抑制器。

6 试剂

- 6.1 亚硫基二乙酸，纯度 $\geq 99.5\%$ 。
- 6.2 甲醇，色谱纯。

6.3 去离子水（电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ）。

6.4 亚硫酸基二乙酸标准溶液：准确称取亚硫酸基二乙酸标准品 50.0 mg 于 50 mL 容量瓶中，用去离子水定容至刻度，所得浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准贮备液，于冰箱 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏室中保存备用，可保存 7 天。临用时用去离子水稀释成浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准应用液。或用经国家认可的标准物质配制。

7 样品的采集、运输和保存

7.1 环境条件：尿液样品应在干净无污染的室内场所进行采样，避免待测物的污染，分装地点应清洁无污染，禁止非专业人员进入。

7.2 样品采集：依据 GBZ/T 295《职业卫生生物监测方法总则》尿液样品的采集方法要求采集氯乙烯接触工人班前尿，采样时防止污染。尿样的采集应大于 20 mL。必要时采集双份样品，一份作为备份样品。样品采集后，2 h 内用比重计测尿样比重。

7.3 样品空白：在样品采集的过程中，同时制备 3 套样品空白，以模拟方式采集去离子水，并与样品同时运输、储存和测定。

7.4 样品运输：将采集后的样品和样品空白置于清洁容器中 2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏运输，运输周期不超过 12 小时。

7.5 样品保存：样品在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下可保存 3 d；样品在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 下可保存 14 d。

8 分析步骤

8.1 标准系列的配制和测定：用标准应用液和去离子水配制成浓度分别为 0.0 $\mu\text{g/mL}$ 、0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、0.50 $\mu\text{g/mL}$ 、2.50 $\mu\text{g/mL}$ 、10.00 $\mu\text{g/mL}$ 、50.00 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液。按照仪器操作参考条件，将离子色谱仪调节至最佳测定状态，取 25 μL 进样，测定标准系列，以峰面积值对亚硫酸基二乙酸浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）计算线性回归方程。

8.2 样品处理：取 10 mL 尿样加入 15 mL 离心管中，3 000 r/min 常温离心 10 min；取上层尿样 2.5 mL 于 10 mL 容量瓶中，用去离子水定容至刻度，涡旋振荡 1 min；在 C_{18} 固相萃取小柱中依次加入 2 mL 甲醇和 2 mL 去离子水，自然淋洗以活化固相萃取小柱，并用吸耳球吹掉柱内残液。准确量取 2.0 mL 稀释后的尿样通过活化后的 C_{18} 固相萃取小柱，用 1.0 mL 去离子水淋洗小柱并用吸耳球吹出柱内残液，收集流出液，涡旋振荡 1 min；用 0.22 μm 尼龙滤膜水系过滤头过滤后转移到进样小瓶待测。或使用自动固相萃取装置处理。

8.3 样品测定：用测定标准系列的操作条件测定样品溶液和空白溶液，以保留时间定性，以峰面积定量。当样品空白检验结果大于方法定量下限时，应对方法空白、采样容器空白、容器空白、试剂空白和仪器空白等进行检验，以确定样品空白结果的来源。超过标曲线浓度范围后样品稀释 2 倍后测定重复测定。

仪器操作参考条件：

- 色谱柱：IonPac AS19 阴离子色谱柱（250 mm \times 4 mm），或其他等效离子色谱柱；
- 淋洗液：氢氧化钾溶液；
- 梯度淋洗模式：0 min~10 min，20.0 mmol/L；10 min~20 min，20.0 mmol/L~30.0 mmol/L；20 min~30 min，30.0 mmol/L~60.0 mmol/L；30 min~36 min，60.0 mmol/L。
- 淋洗液流速：1.0 mL/min；
- 抑制器：抑制电流 150 mA；
- 自动进样器：进样体积 25 μL 。

8.4 质量控制：采用样品加标的方式进行检测结果质量控制。

9 计算

9.1 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）：

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

9.2 按式（2）计算尿样中亚硫基二乙酸的浓度：

$$\rho = \rho_0 \times 6 \times k \dots\dots\dots (2)$$

式中：

ρ —尿样中亚硫基二乙酸质量浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

ρ_0 —离子色谱测得的亚硫基二乙酸质量浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

6—尿样的稀释倍数；

k—尿样换算成标准比重（1.020）下的浓度校正系数。

10 说明

10.1 本方法检出限为 $0.1 \mu\text{g/mL}$ ，定量下限为 $0.3 \mu\text{g/mL}$ ；方法测定范围为 $0.3 \mu\text{g/mL} \sim 300.0 \mu\text{g/mL}$ ；批内精密性范围为 $1.26\% \sim 5.03\%$ ；批间精密性范围为 $0.50\% \sim 8.78\%$ ；加标回收率为 $80.1\% \sim 104.2\%$ 。

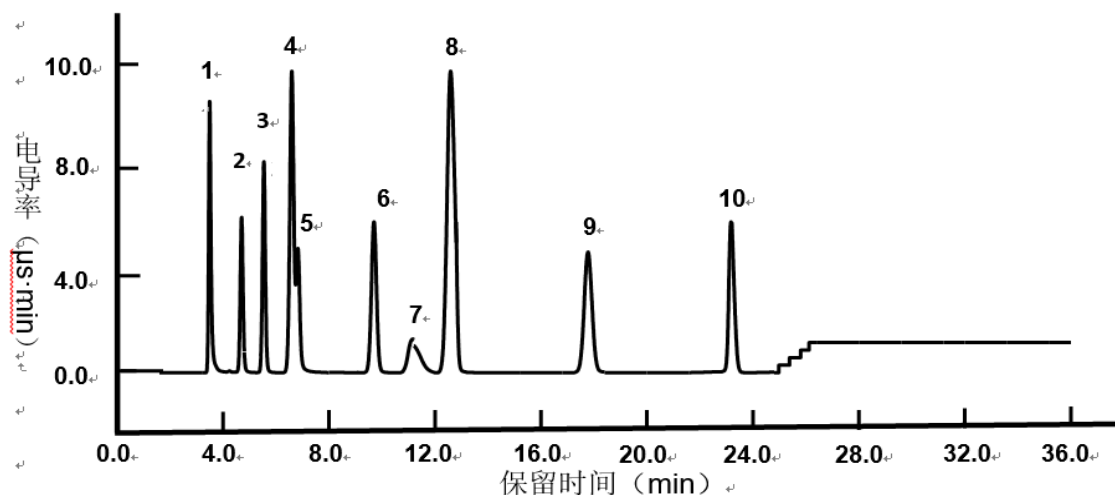
10.2 测定尿样比重前不可冷冻尿液，会导致沉淀。

10.3 尿液如浑浊，应离心后取上清测定。

10.4 剔除尿比重低于 1.010g/mL 和大于 1.030g/mL 的尿样。

10.5 检测的质量保证遵守 GBZ/T 295。

10.6 色谱标准图见图 1。



注：

1——氟离子（ F^- ）；

2——氯乙酸（ $\text{C}_2\text{H}_2\text{ClO}_2^-$ ）；

3——氯离子（ Cl^- ）；

4——二氯乙酸（ $\text{C}_2\text{HCl}_2\text{O}_2^-$ ）；

5——亚硝酸（ NO_2^{2-} ）；

- 6——硝酸 (NO_3^{2-}) ;
- 7——碳酸离子 (CO_3^{2-}) ;
- 8——硫酸 (SO_4^{2-}) + 三氯乙酸 ($\text{C}_2\text{Cl}_3\text{O}_2^{-1}$) ;
- 9——亚硫基二乙酸 (TDGA) ;
- 10——磷酸 (PO_4^{2-}) 。

图1 色谱标准图



卫生标准制（修）订项目编号：20xxxxxx

尿中亚硫基二乙酸的测定标准 离子色谱法

Determination of thiodiglycolic acid in urine—

Ion chromatography method

（征求意见稿）

编制说明

北京市化工职业病防治院

2021年9月26日

一、项目基本情况

(一) 任务来源与项目编号

根据《国家卫生健康委规划司关于下达卫生健康标准体系升级改造项目计划的通知》和《中国疾病预防控制中心关于落实卫生健康标准体系升级改造相关工作的通知》,《中国疾病预防控制中心关于2021年度国家卫生健康标准职业健康专业修订项目的通知》(中疾控标准便函〔2021〕881号),本项目由国家卫生健康委列入2021年公共卫生标准体系升级改造项目,项目名称《尿中亚甲基二乙酸的测定 离子色谱方法》。

(二) 各起草单位和起草人承担的工作

序号	姓名	性别	职称/职务	单 位	所承担的工作
1	潘兴富	男	副研究员	北京市化工职业病防治院	项目负责人
2	刘晓东	男	助理研究员	北京市化工职业病防治院	参与标准研制
3	牛东升	男	副研究员	北京市化工职业病防治院	参与标准研制
4	丁晓文	女	高级工程师	北京市化工职业病防治院	参与标准研制
5	赵 玮	女	副研究员	中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所	参与标准研制
6	崔师伟	男	副研究员	中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所	参与标准研制
7	丁春光	男	副研究员	国家卫生健康委职业安全卫生研究中心	参与标准研制
8	郑玉桥	男	工程师	国家卫生健康委职业安全卫生研究中心	参与标准研制
9	李添娣	女	主任技师	深圳市职业病防治院	参与标准研制
10	贲建培	女	副主任技师	深圳市职业病防治院	参与标准研制

(三) 起草过程

1. 前期基础

(1) 文献调研

氯乙烯是一种重要的化工原料，主要用于合成聚氯乙烯，其可对心、肺、脑、血液等多个器官和系统产生毒性，长期接触可致肝脏和脾脏损害以及肢端溶骨症。1987 年氯乙烯单体被国际癌症研究机构 (IARC) 列为 1 类致癌物，可导致人肝血管肉瘤。我国氯乙烯职业接触的时间加权平均容许浓度 (PC-TWA) 为 10 mg/m^3 ，短时间接触容许浓度 (PC-STEL) 为 20 mg/m^3 。

亚硫基二乙酸 (Thiodiglycolic Acid, TDGA, CAS:123-93-3) 是氯乙烯在体内代谢的终产物，随尿液排出体外。研究发现尿中 TDGA 与工作场所中氯乙烯的浓度存在强相关性，TDGA 可以作为氯乙烯的职业接触的生物监测指标。

TDGA 的检测方法主要有气相色谱法、气相色谱-质谱法、伏安法、毛细管电泳法、液相-质谱联用法等。我国在 1996 年发布了 WS/T 63—1996 《尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法》。该标准方法在样品前处理过程中使用具有致癌性和爆炸性重氮甲烷作为衍生剂，不仅操作繁琐而且对实验人员的人身安全造成一定的威胁。

尿液是以水为基质的复杂体系，其中溶解了大量的极性物质。TDGA 是一种弱酸，在水中易电离，用离子色谱检测存在理论依据，而且离子色谱对离子的检测灵敏度高。此外，离子色谱在理化检测实验室的配置率较高，测定成本也相对较低。因此本实验选择离子色谱来测定尿中亚硫基二乙酸。

(2) 检测方法优化

1) 样品前处理方法的选择

尿液样品中含有大量的干扰物质，且不同个体差异较大，如果不进行净化处理，会影响样品检测得准确性，同时会对仪器设备造成损伤。本研究分别采用液-液萃取和固相萃取两种样品前处理方法处理样品，并对两种前处理方法进行比对。

液-液萃取方法采用不同浓度稀盐酸对尿液进行酸化，再用不同有机溶剂萃取，用氮气吹干后用蒸馏水复溶，进离子色谱分析；固相萃取本实验采用空白尿液加标法，分别选择强阴离子吸附小柱 **BONDELUT-SAX**，混合型阴离子反相吸附小柱 **Oasis MAX** 和 **AccuBOND ODS-C₁₈** 三种固相萃取小柱进行实验。**TDGA** 是一种弱酸，本文采用空白尿液加标配制浓度为 $10 \mu\text{g/mL}$ 的加标样品进行方法研究。

实验结果显示液-液萃取法对 **TDGA** 的加标回收率较低；固相萃取法易于自动化，需要的样品和有机溶剂更少。**C₁₈** 小柱在本实验中作为净化柱使用，可有效吸附非极性杂质及蛋白质，色素等大分子物质，而目标物不被保留。固相萃取方法中前两种是利用固相萃取的目标物吸附模式，而 **C₁₈** 小柱是利用固相萃取的杂质吸附模式，并不对 **TDGA** 进行保留。实验结果显示，**SAX** 和 **MAX** 两种固相小柱对 **TDGA** 的加标回收率较低，而且样品过柱后需用稀盐酸洗脱，引入的大量氯离子会影响目标物的分离效果和离子色谱柱的使用寿命。**Oasis MAX** 是一种混合型离子交换反相吸附剂，该柱对 **TDGA** 的加标回收率较低。**C₁₈** 小柱在本实验中作为净化柱使用，可有效吸附非极性杂质及

蛋白质、色素等大分子物质，对 TDGA 加标回收率 93.7%~105.4%。因此本方法最终选择 C₁₈ 小柱进行样品的前处理，主要用于尿液样品的净化。

综合分析，液-液萃取法不仅费时费力而且需要用大量有机溶剂，因此本文放弃液-液萃取法，采用更环保快速的固相萃取法作为前处理技术。

2) 色谱柱的选择

适用于较为复杂基质样品中多价阴离子测定色谱柱有 IonPac AS11-HC、IonPac AS₁₆ 和 IonPac AS₁₉ 三种，通过实验和结果显示，AS11-HC 色谱柱不能将 TDGA 与基质杂质有效分离；AS₁₆ 色谱柱，TDGA 色谱峰则被杂质完全掩盖；AS₁₉ 色谱柱则可将目标物与基质杂质有效分离，因此选用 AS₁₉ 色谱柱来对 TDGA 进行测定。

3) 淋洗液浓度、流速的优化

离子色谱常用淋洗液体系有氢氧化钾和碳酸氢钠体系，本实验选择背景电导低，噪声小，灵敏度高的 KOH 作淋洗液，对 30mmol/L、50.0mmol/L、梯度洗脱三种不同的淋洗液浓度和 0.8ml/min, 1.0ml/min, 1.2ml/min 三种不同流速进行比较实验。当淋洗液浓度为 30.0mmol/L 时，基本能实现对目标物的分离，但随着流速的增大分离效果越来越差，且目标物的出峰时间均在 25min 以上。当淋洗液浓度为 50.0mmol/L，三种流速都不能实现对目标物的有效分离。本项目选择梯度洗脱模式，1.0ml/min 的流速时，既能将目标物较好的分离，时间又不至于过长，出峰时间在 18min 左右。

4) 方法准确度和精密度实验

取正常人尿液，配制 TDGA 浓度分别为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 3 个剂量水平的加标样品，每个水平 6 个样品。按照上述检测方法进行检测分析并计算方法准确度和批内精密度。另配制上述三个剂量水平加标样品各 12 个，每个水平样品每天抽取两个测定，重复 6 次，计算批间精密度。结果显示，样品加标回收率为 80.1%~104.2%，批内精密度为 1.26%~5.03%，批间精密度为 0.50%~8.78%。方法准确度和精密度满足测定生物监测方法研制规范的要求。结果见表 1。

表 1 准确度和精密度实验结果

加标量 ($\mu\text{g/mL}$)	样品数 (个)	测得值 ($\bar{x} \pm S$, $\mu\text{g/mL}$)	平均回收率 (%)	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
1.0	6	0.83 \pm 0.01	83.10	1.26	8.78
5.0	6	4.01 \pm 0.20	80.10	5.03	4.82
50	6	51.11 \pm 0.69	104.20	1.33	0.50

5) 样品稳定性实验

采用样品加标法，取空白尿液加标配制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准样品共 30 份，分别在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和-20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下存放，以当天的测定结果为 100%，计算存放不同时间的样品含量下降率，以下降率小于 10%为符合稳定性要求。结果显示，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 存放条件下，第 7 天样品含量的下降率已超过 10%；在-20 $^{\circ}\text{C}$ 存放条件下，第 14 天样品含量的下降率为 6.22%，结果表明样品在-20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下至少可存放 14 d。

2. 项目启动

2021年4月1日，成立了《尿中亚硫基二乙酸的测定 离子色谱法》标准起草组，明确了相关单位和负责同志的职责和任务分工。起草单位主要包括北京市化工职业病防治院、中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所、国家卫生健康委职业安全卫生研究中心、深圳市职业病防治院。2021年7月6日，职业健康标准专业委员会秘书处在贵阳召开项目启动会，该项目正式启动。

3. 现场工作进程

(1) 项目开展的预调查

2014，中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所在进行职业卫生生物监测方法标准梳理时发现尿中亚硫基二乙酸的标准检测方法 WS/T 63—1996《尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法》存在重大缺陷。调查本标准在职业卫生检测机构的使用情况时发现几乎没有检测机构使用本标准。因此，本项目承担者根据目标化合物的理化性质、存在状态以及适合的检测仪器，着手研究尿中亚硫基二乙酸的离子色谱测定方法。

(2) 实验室验证

本方法在研制完成后选择了中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所、国家卫生健康委职业安全卫生研究中心、深圳市职业病防治院对方法的各项方法学指标进行了验证，包括测定范围、精密度、准确度、检出限、定量下限等指标。验证结果均认为本方法科学性和可操作性较强，适合氯乙烯职业接触者尿中亚硫基二乙酸的测定。

具提验证结果如下：取空白尿液，加入不同水平亚硫基二乙酸后

混匀制成低、中、高三个浓度组样品，分别为空白尿+3.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、空白尿+15.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、空白尿+45.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，进行精密度和准确度实验。每个浓度组制备 6 个平行样品，样品经处理后检测。

各验证单位结果汇总（高、中、低浓度范围）

验证单位	批内精密度	批间精密度	准确度	方法定量下限 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
北京市职业病防治研究院	1.26%~5.03%	0.50%~8.78%	80.1%~104.2%	0.30
深圳市职业病防治院	1.3%~2.1%	2.1%~4.2%	85.6%~103.7%	0.30
国家卫生健康委职业安全卫生研究中心	0.7%~1.5%	1.5%~3.0%	84.6%~85.9%	0.11
中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所	1.59%~3.18%	1.86%~3.82%	91.0%~98.1%	0.30

（3）实际样品测定：

选取某聚氯乙烯化工厂的氯乙烯和聚氯乙烯生产车间 30 名工人作为接触组，同时选取工厂内后勤和办公室人员 11 人作为对照组，采集班前尿。按本实验方法进行测定，结果显示，对照组样品尿液中 TDGA 含量均 $<0.3 \mu\text{g}/\text{mL}$ ，接触组工人尿中 TDGA 的质量浓度为 0.3~52.46 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，证明本方法测定范围和检出限满足于氯乙烯暴露工人尿中 TDGA 的测定。

4. 文本修改过程

2021 年 8 月 10 日，标准起草组完成初稿的起草工作。

2021 年 8 月 15 日，经专家讨论后完成初稿的修改并形成征求意见稿。

2021 年 8 月 20 日，将该方法上传至卫生标准网、同时也发送相关专家，同时向社会及标委会委员进行征求意见。根据专家反馈意见，

进行修改和完善，形成送审稿。

5. 项目完成情况

项目于 2021 年 7 月立项，经资料查询，实验方案设计，条件选择实验，方法学各项指标研究，实验数据汇总，方法验证，至标准方法送审稿形成，于 2021 年 9 月完成。

二、与相关规范性文件和标准的关系

本标准作为推荐性国家职业卫生标准，与《中华人民共和国职业病防治法》配套，格式依据 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则编写。

与本标准相关的文件和标准有 GBZ/T 295《职业人群生物监测方法 总则》、WS/T 63—1996《尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法》。WS/T 63—1996《尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法》与本标准的区别是改变了样品前处理方法和仪器检测方法，新方法前处理更简单安全环保，适合大量样本的快速检测。本方法按照 GBZ/T 295《职业人群生物监测方法 总则》的规定进行研制，并按 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则编写。

三、国外相关规定和标准情况的对比说明

国外尚未制定亚硫基二乙酸的标准检测方法。

五、征求意见和采纳情况

2021年8月，课题组将该标准的征求意见稿向社会、技术服务机构等广泛征求意见，共计发出征求意见函30份，非委员意见收回26份。

六、重大意见分歧的处理结果和依据

暂无重大意见分歧。

七、实施标准的建议

本标准建议发布后3个月实施。（本标准需要使用单位有充分的过渡期，建议发布后6个月实施，过渡期间，新旧标准均可使用。）

本标准涉及职业卫生检测机构实验室检测技术人员。

本标准与WS/T 63—1996《尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法》不一致，建议自本标准实施之日起，WS/T 63—1996《尿中亚硫基二乙酸的气相色谱测定方法》相应内容废止。

八、其他应予说明的事项

暂无。