

· 监测与检验 ·

高效液相色谱法测定尿中苯乙醛酸和苯乙醇酸

Determination of urinary phenylglyoxylic acid and mandelic acid with high performance liquid chromatography

李晓华, 陈忠辉, 李斌, 郭君

LI Xiao-hua CHEN Zhong-hui, LI Bin, GUO Jun

(中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050)

摘要: 尿样经溶剂提取、C18反相柱分离后, 在225 nm波长对苯乙醛酸(PGA)和苯乙醇酸(MA)进行检测。PGA的标准曲线线性范围0.04~0.4 mg/ml, 检出限(3倍噪声)5.7 ng, 回收率为95.9%~102.0%, 批内精密性(RSD)为4.5%~7.1%, 批间精密性为4.6%~8.9%。MA的标准曲线线性范围0.1~1.0 mg/ml, 检出限(3倍噪声)8.6 ng, 回收率为86.8%~95.5%, 批内精密性为3.1%~5.3%。批间精密性为5.5%~9.5%。该方法被应用于测定苯乙烯接触者尿中PGA和MA, 具有快速、准确、简便、灵敏度高的特点。

关键词: 苯乙醛酸; 苯乙醇酸; 高效液相色谱; 尿

中图分类号: O657.71; O623.67 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2003)01-0046-02

苯乙烯进入人体后少量以原型自呼出气和尿中排出, 绝大多数以代谢产物苯乙醛酸(PGA)和苯乙醇酸(MA)自尿中排出^[1]。尿中PGA和MA可以反映近几天的苯乙烯接触量及负荷, 美国官方工业卫生家协会(ACGIH)及欧共体已将其作为苯乙烯的生物接触指标并制定了相应的生物接触限值。目前, 国内外通常使用高效液相色谱(HPLC)法测定尿中MA和PGA^[2~4], 这些方法大多是十年前建立的, 受当时的色谱分离技术的限制, 必须用不同的紫外波长分别检测MA和PGA, 以便提高特异性和减少杂质的干扰, 这给实际使用带来了不便。本文研究建立了使用单一波长检测的高效液相色谱法测定尿中PGA和MA, 并对样品处理和色谱条件进行了改进和优化。

1 实验方法

1.1 仪器与试剂

Waters 6000HPLC, Waters U6K 进样器; 岛津 SPD-6A 紫外检测器, HP3390 数字积分仪。甲醇, 优级纯; 氢氧化钾、冰醋酸、磷酸、乙酸乙酯、盐酸均为分析纯。MA、PGA和4-羟基苯甲酸均购自Aldrich公司。

标准溶液: 准确称取0.500 g MA和0.200 g PGA, 用1 ml 0.5 mol/L KOH溶解后, 加双蒸水至50 ml, 此为10 mg/ml MA和4 mg/ml PGA的混合标准储备液。标准储备液用水稀释10倍为1.0 mg/ml MA和0.4 mg/ml PGA的混合标准应用液。

内标溶液: 准确称取0.200 g 4-羟基苯甲酸, 用1 ml 0.5 mol/L KOH溶解后, 加双蒸水至50 ml, 此为内标溶液。

收稿日期: 2002-08-05; 修回日期: 2002-09-20

作者简介: 李晓华(1963-), 男, 副研究员, 从事毒物检测方法的研究。

1.2 色谱条件

色谱柱: Spheris S3-ODS2 柱(4.6×100 mm), 柱温为室温。流动相+甲醇: 混合酸(0.05%醋酸及0.05%磷酸)=1+9; 流速: 1.0 ml/min。紫外检测器波长为225 nm。

1.3 标准曲线的制作

分别取0.1、0.3、0.5、0.7、1.0 ml 混合标准应用液于5只试管中, 补加双蒸水至1 ml, 每管各加入0.1 ml 6 mol/L 盐酸及50 μl 内标溶液, 混匀。再加入4 ml 乙酸乙酯, 在漩涡混匀器上提取3 min。静置1 min后, 取0.5 ml 上清液, 40℃吹氮浓缩至干, 加0.2 ml 流动相定容, 混匀1 min。取5 μl 注入高效液相色谱仪测定。以被测物含量(mg/ml)为横坐标, 被测物与内标物峰面积的比值为纵坐标, 绘制标准曲线。

1.4 样品测定

取1.0 ml 尿样于10 ml 试管中, 依次加入0.1 ml 6 mol/L 盐酸及50 μl 内标溶液, 混匀。再加入4 ml 乙酸乙酯, 在漩涡混匀器上提取3 min。在3 500 r/min 下离心5 min, 分取0.5 ml 上清液, 40℃吹氮浓缩至干, 加0.2 ml 流动相定容, 混匀1 min。取5 μl 注入高效液相色谱仪测定。标准品保留时间定性, 内标标准曲线法定量。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件

以往的PGA和MA测定皆使用带有自动程序切换波长的紫外检测器, 在254 nm 检测PGA, 225 nm 检测MA。目前国内许多HPLC系统并不具备此条件。本文改用225 nm 单一波长进行检测, 检测限符合样品测定的要求, 有利于方法的推广应用。文献报道的PGA和MA高效液相色谱测定方法多使用磷酸盐和长链磺酸钠作为流动相改性剂^[3], 这些改性剂缩短了色谱柱的寿命, 也增加了仪器系统的维护难度。我们试验了甲酸、醋酸和磷酸等非盐改性剂, 以醋酸和磷酸的混合酸(体积分数均为0.05%)效果最佳, 有效地改善了峰形, 又克服了上述盐的一些缺点, 见图1。

2.2 萃取条件及回收率实验

文献报道的尿中PGA和MA的萃取溶剂有乙醚^[3]或混合溶剂(二氯甲烷+异丙醇)^[2]。前者由于挥发性很大而使得操作多有不便; 后者主要缺点是毒性较大, 且其位于水相之下, 不利于有机相的转移。用乙酸乙酯作为萃取剂克服了这些缺点。PGA在0.04 mg/ml、0.12 mg/ml、0.4 mg/ml 3种浓度下的加标回收率($n=3$)分别为102%、96.1%、95.9%; MA在0.1 mg/ml、0.3 mg/ml、1.0 mg/ml 3种浓度下的加标回收率($n=3$)

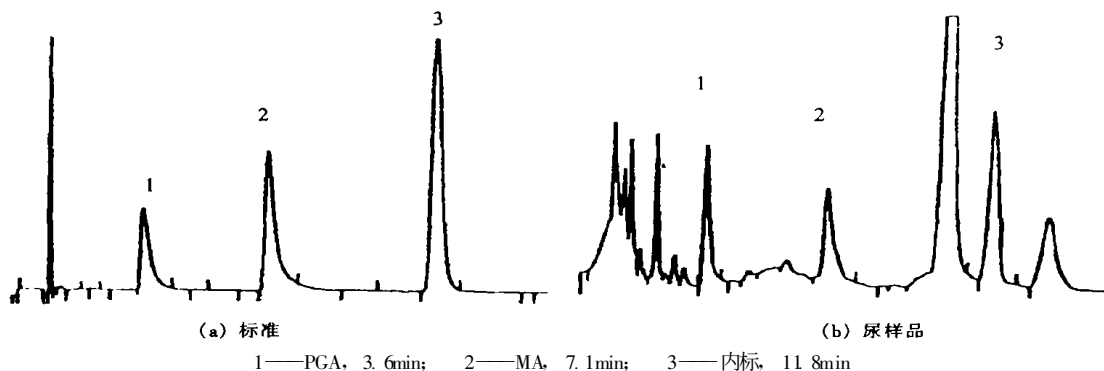


图 1 PGA 和 MA 色谱图

为 92.5%、86.8%、95.5%。

2.3 标准曲线线性及检出限

PGA 的标准曲线线性范围为 0.04~0.4 mg/ml, 线性相关系数 $r=0.9999$; 检出限 (3 倍噪声) 为 5.7 ng。MA 的标准曲线线性范围为 0.1~1.0 mg/ml, 线性相关系数 $r=0.9992$; 检出限 (3 倍噪声) 为 8.6 ng。ACGIH 规定 MA 及 PGA 的生物接触限值分别为 1 g/L 及 250 mg/L, 因此本方法灵敏度可以满足样品测定的要求。

2.4 精密度实验

空白尿样加标, 配制高、低 2 个浓度的样品。在第 1 天每种浓度各测定 6 份平行样, 计算批内精密度; 在接下来的 5 天里每天测定这 2 个浓度的尿样, 计算批间精密度。结果显示, PGA 在 0.4 mg/ml 和 0.04 mg/ml 2 个浓度下的批内精密度 ($n=6$, RSD) 分别为 4.5%、7.1%; 批间精密度为 4.6% 及 8.9%。MA 在 1.0 mg/ml 和 0.1 mg/ml 2 个浓度下的批内精密度 ($n=6$, RSD) 分别为 3.1%、5.3%, 批间精密度

为 5.5% 及 9.5%。

3 小结

本文研究的方法简便、快捷, 具有良好的灵敏度、精密度和准确度, 可用于尿中 PGA 和 MA 的测定。

参考文献:

- [1] 夏元洵. 化学物质毒性全书 [M]. 上海: 上海科技文献出版社, 1991. 340.
- [2] 倪莉珍, 陈楚良, 金锡鹏 等. 反相高效液相色谱法测定苯乙醛酸和苯乙醇酸 [J]. 工业卫生与职业病, 1990, 16 (5): 298.
- [3] Ogata M, Taguchi T. Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated high performance liquid chromatography [J]. Int Arch Occup Environ Health, 1988, 61: 131-140.
- [4] Ogata M, Sugihara R. High performance liquid chromatographic procedure for quantitative determination of urinary phenylglyoxylic, mandelic and hippuric acids as indices of styrene exposure [J]. Int Arch Occup Environ Health, 1978, 42: 11-19.

比色管消解测定发汞方法的改进

Improvement of hair-mercury analysis with colorimeter

张宜明, 朱圣陶

ZHANG Yi-ming, ZHU Sheng-tao

(苏州大学放射医学与公共卫生学院营养与食品卫生教研室, 江苏 苏州 215007)

摘要: 对比色管消解发样测定发汞的过程作了一些改进, 实验数据表明, 发样消解完全, 消解过程中发汞损失较少, 测定的精密度及准确度可以满足要求。

关键词: 发汞; 冷原子吸收法; 测定

中图分类号: O614.243; Q58 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2003)01-0047-02

汞是环境中有毒重金属元素之一, 人体毛发中总汞含量比血汞高, 其比值为 281:1, 因此毛发中总汞含量可以反映体

内的汞负荷^[1]。生物组织样品中的汞含量通常以冷原子吸收法测定, 其样品消解的方法有多种, 以比色管消解发样的方法较为简便 (以下称原方法)^[2]。本文所介绍的方法是对比色管消解发样测定发汞的过程作了部分改进, 实验结果表明, 实验的精密度及准确度均可满足要求, 而且操作过程较为简便, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 器材与试剂

CG-1C 型测汞仪, 自制有孔塑料板, 25 ml 比色管, 10 ml 离心管, 水浴锅, 硝酸, 硫酸, 高锰酸钾, 五氧化二钒, 20% 盐酸羟胺, 30% 氯化亚锡, 汞标准使用液 (0.1 μ g/ml,

收稿日期: 2002-06-11; 修回日期: 2002-10-18

作者简介: 张宜明 (1973-), 男, 安徽芜湖人, 在读营养与食品卫生学研究生。