

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 312—2018

尿中N-甲基乙酰胺的测定 气相色谱法

Determination of N-methylacetamide in urine—

Gas chromatographic method

2018-08 - 16 发布

2019 - 01 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

根据《中华人民共和国职业病防治法》制定本标准。

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准起草单位：浙江省医学科学院、浙江省疾病预防控制中心、广东省职业病防治院、上海市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：钱亚玲、唐红芳、阮征、王晗、朱海豹、刘丹华、吴邦华、温忆敏、赵永信。

尿中N-甲基乙酰胺的测定 气相色谱法

1 范围

本标准规定了测定尿中N-甲基乙酰胺的气相色谱法。
本标准适用于职业接触人员尿中N-甲基乙酰胺的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 295 职业人群生物监测方法 总则
- WS/T 97 尿中肌酐分光光度测定方法
- WS/T 98 尿中肌酐的反相高效液相色谱测定方法

3 原理

尿液样品(以下称尿样)经冷冻、离心、甲醇沉淀蛋白后,用极性毛细管色谱柱分离尿中的N-甲基乙酰胺,经氮磷检测器检测,以保留时间定性,峰面积定量。

4 仪器

- 4.1 具盖聚乙烯塑料瓶:50mL。
- 4.2 具盖聚乙烯塑料离心管:5mL、10mL。
- 4.3 离心机:5000r/min。
- 4.4 微量注射器:1 μ L。
- 4.5 气相色谱仪,具氮磷检测器、自动进样器。

仪器操作参考条件:

- a) 色谱柱:30 m \times 0.53 mm \times 1.0 μ m 键合/交联聚乙二醇(PEG-20M);
- b) 柱温:初温100 $^{\circ}$ C,保持1min,以25 $^{\circ}$ C/min升温至170 $^{\circ}$ C,保持3min,以10 $^{\circ}$ C/min升温至210 $^{\circ}$ C,保持3min;
- c) 汽化室温度:250 $^{\circ}$ C;
- d) 检测室温度:320 $^{\circ}$ C;
- e) 载气(氮气)流量:6.0 mL/min;
- f) 分流比:10:1。

5 试剂

- 5.1 实验用水:色谱鉴定无干扰杂峰。
- 5.2 甲醇溶液:80%(体积分数),色谱鉴定无干扰杂峰。

5.3 标准溶液：准确称取一定量的 N-甲基乙酰胺（含量≥99%，用温水溶化后吸取），用甲醇溶液稀释并定容到一定体积，制成标准贮备液，置于 4℃ 冰箱中保存、备用。临用时用甲醇溶液稀释成浓度为 1.00 mg/mL 的标准应用液①和浓度为 0.020mg/mL 的标准应用液②。

6 样品的采集、运输和保存

用具盖聚乙烯塑料瓶收集职业接触二甲基乙酰胺劳动者工作周末的班末尿 50mL，旋紧瓶盖后于室温下运输，置-18℃ 冰箱中存放，可保存两周。

7 分析步骤

7.1 空白检查：取 1.0mL 水移至 5mL 具塞离心管中，加甲醇溶液 4.0mL，混匀后供测定，色谱鉴定应无干扰杂峰。

7.2 样品处理：将冰冻尿样放置在室温解冻后，混匀，取 10mL 尿液置于 10mL 具塞离心管中，以 3000 r/min 离心 10min，准确吸取上清液 1.0mL 移至 5mL 具塞离心管中，加入甲醇溶液 4.0mL，混匀，再以 3000 r/min 离心 10min，上清液供测定。

7.3 标准曲线绘制：于 10 mL 容量瓶中准确加入 0.0 mL、0.10mL、0.20mL、1.00mL 的标准应用液②和 0.10mL、0.50mL 的标准应用液①，加水 2.0mL，用甲醇溶液定容到刻度，配制成浓度为 0.0 μg/mL、0.20 μg/mL、0.40 μg/mL、2.00 μg/mL、10.0 μg/mL、50.0 μg/mL 的 N-甲基乙酰胺标准系列；参照仪器操作条件，将气相色谱仪调节至最佳测定状态，分别进样 0.2 μL，测定各标准系列，每个浓度重复测定 3 次。以保留时间定性，以 N-甲基乙酰胺的浓度（μg/mL）为横坐标，测得的峰面积均值为纵坐标绘制标准曲线或计算回归方程。

7.4 样品测定：用测定标准系列的操作条件测定尿样上清液溶液，测得的样品峰面积值由标准曲线或回归方程，得到样品溶液中 N-甲基乙酰胺的浓度（μg/mL）。若样品中 N-甲基乙酰胺浓度超过测定范围，可用甲醇溶液稀释后测定，计算时乘以稀释倍数。

8 计算

8.1 按式（1）计算尿中 N-甲基乙酰胺的浓度：

$$C=5C_0 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C——尿中 N-甲基乙酰胺的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

5——尿样前处理的稀释因子；

C₀——测得的尿样溶液中 N-甲基乙酰胺的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）。

8.2 为了校正尿液的稀释作用，尿样采集后应按 WS/T 97 或 WS/T 98 尽快测定肌酐，校正公式见式（2）：

$$m = \frac{c}{Cr} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

m——肌酐校正后尿样中 N-甲基乙酰胺的浓度，单位为毫克每克肌酐（mg/g 肌酐）；

c——尿中 N-甲基乙酰胺的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

Cr——尿中肌酐的浓度，单位为克每升（g/L）。

9 说明

9.1 本法测定范围为 $0.20\mu\text{g/mL}$ ~ $50.0\mu\text{g/mL}$ ，检出限为 $0.04\mu\text{g/mL}$ ，最低检出浓度为 0.2mg/L （以取尿样 1.0mL 用甲醇溶液定容至 5mL 计），相对标准偏差为 1.5% ~ 3.4% ，加标回收率为 96.0% ~ 99.4% 。

9.2 若采用微量注射器手动进样，需将最终标准系列和尿样上清液用甲醇溶液稀释 5 倍，进样体积调整为 $1.0\mu\text{L}$ 。

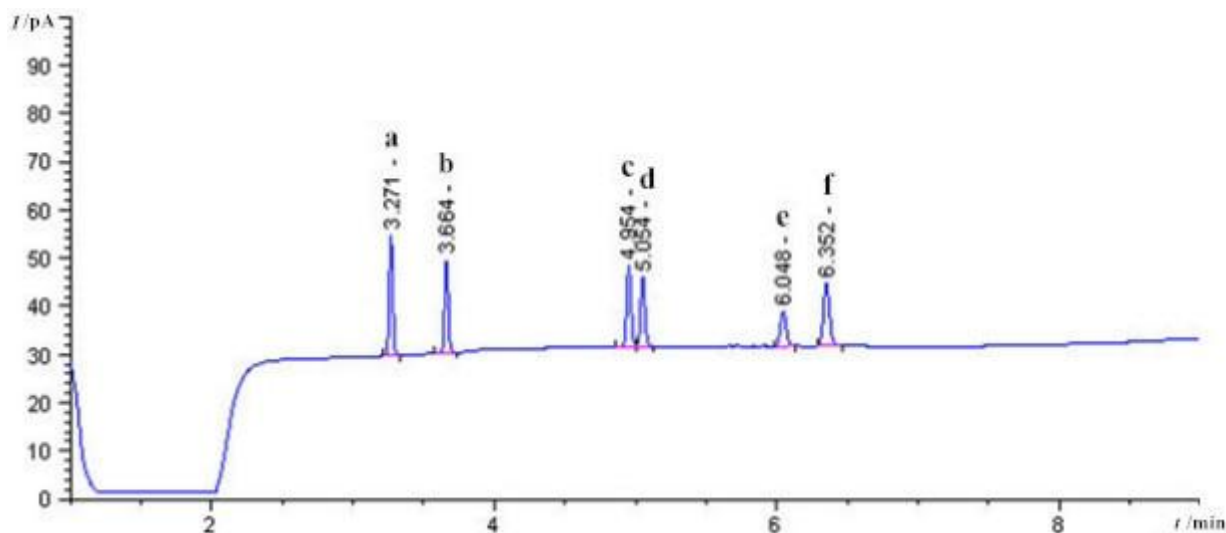
9.3 测定过高浓度尿样后，若接着测定低浓度尿样，需应用甲醇溶液进样数次以清洗色谱系统，直至无干扰峰。

9.4 样品在 -18°C 可保存 2 周。

9.5 干扰试验：当工作场所空气中二甲基甲酰胺和二甲基乙酰胺共存时，接触者的尿样中除代谢物 N-甲基乙酰胺外，还有 N-甲基甲酰胺、乙酰胺、甲酰胺，以及未转化的二甲基甲酰胺和二甲基乙酰胺。结果表明另 5 种酰胺不干扰尿中 N-甲基乙酰胺的测定。若工作场所空气中不共存二甲基甲酰胺，即尿中无 N-甲基甲酰胺时，也可采用规格为 $30\text{m}\times 0.32\text{mm}\times 0.25\mu\text{m}$ 的键合/交联聚乙二醇（PEG）毛细管色谱柱测定。

9.6 检测过程中的质量控制按 GBZ/T 295 进行。

9.7 尿样测定的色谱分离图见图1。



注：

- a——二甲基甲酰胺；
- b——二甲基乙酰胺；
- c——N-甲基乙酰胺；
- d——N-甲基甲酰胺；
- e——乙酰胺；
- f——甲酰胺。

图 1 尿中共存物色谱分离图