

· 实验技术 ·

# 顶空气相色谱法检测尿二氯乙酸和三氯乙酸

杨清华<sup>1</sup>, 施逸岚<sup>1</sup>, 顾俊<sup>1</sup>, 陈峰<sup>1</sup>, 韦加梅<sup>2</sup>

1.南通市疾病预防控制中心理化科, 江苏 南通 226002; 2.南京市浦口区疾病预防控制中心, 江苏 南京 210000

**摘要:** **目的** 建立同时检测尿二氯乙酸(DCA)和三氯乙酸(TCA)的顶空气相色谱法。**方法** 吸取5 mL尿样于22 mL顶空瓶中,加入0.5 mL 10%乙酸钠溶液后立即加盖密封,摇匀,置于顶空-气相色谱仪中,90 °C平衡60 min后进样,经HP-INNOWAX气相色谱柱分离,氢火焰检测器检测DCA和TCA含量。**结果** 在最佳实验条件下,DCA和TCA在10~500 µg/L范围内的相关系数均大于0.999 0,最低检出限分别为2.0 µg/L和3.5 µg/L,加标回收率为87.40%~101.44%,相对标准偏差(RSD)为1.89%~3.25%。抽检35份职业人群尿样,DCA和TCA均未检出。**结论** 通过加入乙酸钠、优化顶空条件建立的顶空气相色谱法回收率和精密度等指标良好,能满足尿二氯乙酸和三氯乙酸的日常检测需求。

**关键词:** 二氯乙酸; 三氯乙酸; 顶空气相色谱法**中图分类号:** R155.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2022) 02-0213-04

## Determination of dichloroacetic acid and trichloroacetic acid in urine using headspace gas chromatography

YANG Qinghua<sup>1</sup>, SHI Yilan<sup>1</sup>, GU Jun<sup>1</sup>, CHEN Feng<sup>1</sup>, WEI Jiamei<sup>2</sup>

1.Department of Physics and Chemistry, Nantong Center for Disease Prevention and Control, Nantong, Jiangsu 226002, China; 2.Pukou Center for Disease Prevention and Control, Nanjing, Jiangsu 210000, China

**Abstract: Objective** To develop a headspace gas chromatography (HS-GC) assay for simultaneous determination of dichloroacetic acid (DCA) and trichloroacetic acid (TCA) in urine. **Methods** Urine samples (5 mL) were transferred to a 22 mL headspace bottle, added with 0.5 mL 10% sodium acetate solution, immediately sealed, and shaken evenly. The bottle was placed in the HS-GC system, and equilibrated at 90 °C for 60 minutes. The mixture was separated with the HP-INNOWAX chromatographic column, and the DCA and TCA concentrations were detected with the hydrogen flame detector. **Results** Under the optimal experimental conditions, the correlation coefficient of DCA and TCA was both > 0.999 0 within the range of 10-500.0 µg/L, and the lowest detection limits of DCA and TCA were 2.0 and 3.5 µg/L, with the spike recovery rate of 87.40% to 101.44%, and relative standard deviations of 1.89% to 3.25%. Of the 35 urine samples sampled from occupational populations, DCA and TCA were not detected. **Conclusions** The establishment of the HS-GAS assay through addition of sodium acetate and optimization of the headspace conditions, has high recovery and precision, which is effective to meet the requirements for daily determination of DCA and TCA in urine samples.

**Keywords:** dichloroacetic acid; trichloroacetic acid; headspace gas chromatography

三氯乙烯是一种有机溶剂,有潜在的致癌作用,在化工、制药和农业等行业中均有应用,国内外均发生过三氯乙烯职业中毒事故<sup>[1-3]</sup>。二氯乙酸(dichloro-

roacetic acid, DCA)和三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)是三氯乙烯在人体细胞色素P450作用下生成的主要代谢产物,同时检测DCA和TCA的方法有气相色谱法<sup>[4]</sup>、顶空气相色谱-质谱联用法<sup>[5]</sup>、分光光度法<sup>[6]</sup>、超高效液相色谱-串联质谱法<sup>[7]</sup>和高效液相色谱法<sup>[8]</sup>等。气相色谱法检测时,DCA和TCA的沸点高不易挥发,所以要经过衍生生成酯<sup>[4]</sup>,而衍生处理需要消耗大量有机试剂。本研究通过加入

**DOI:** 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.02.022**基金项目:** 南通市科技局项目(JC2020111)**作者简介:** 杨清华,硕士,高级工程师,主要从事理化检验工作**通信作者:** 韦加梅, E-mail: qhyang0822@163.com

乙酸钠和优化顶空处理条件等,建立顶空-气相色谱法检测尿 DCA 和 TCA 含量,为职业人群尿中氯乙酸含量的测定提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器与试剂** GC-2010 plus 岛津气相色谱仪(日本,岛津公司);HSS-86.50 自动顶空仪(美国,DANI);HP-INNOWAX 气相色谱柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm);PX-U2T 尿比重计(广东普析通);100 mL 带盖聚乙烯塑料瓶;专用顶空瓶(22 mL);TH-300 氢气发生器(北京中惠普);SPB-S 空气发生器(北京中惠普)。DCA 和 TCA(纯品,DR.Ehrenstorfer);纯水(依云公司);乙酸钠(分析纯,国药)。

**1.2 样品处理** 样品摇匀,取 5 mL 移入顶空瓶中,分别加入 0.5 mL 不同浓度的乙酸钠溶液,立即加盖密封,摇匀,置于顶空-气相色谱仪中检测,由 GC-2010 plus 岛津气相色谱仪工作站完成数据采集和分析。观察 DCA 和 TCA 响应信号,选择响应最强时对应的乙酸钠浓度。

**1.3 顶空条件** 阀/环温度设定为 95 ℃,传输线温度设定为 100 ℃,设为轻柔振摇模式,进样体积为 1 000 μL。分别设置顶空平衡温度为 65、70、75、80、85、90 和 95 ℃,顶空平衡时间为 15、30、45、60、75 和 90 min,观察对 DCA 和 TCA 信号强度的影响。

**1.4 色谱条件** 采用 HP-INNOWAX 气相色谱柱,高纯氮气(99.999%)为载气,程序升温:初始 45 ℃保持 5 min,以 20 ℃/min 升温至 180 ℃保持 3 min;进样口温度 200 ℃,氢火焰检测器温度 230 ℃,柱流速 1.5 mL/min,分流比 10:1;氢气流速 40 mL/min,空气流速 400 mL/min。

**1.5 标准系列的配制** 分别称量 1.000 g DCA 和 TCA 纯品,纯水溶解并定容至 100 mL(10.0 g/L),将此标准储备液置于 4 ℃冰箱冷藏,用纯水逐渐稀释成 1 000 μg/L 标准使用液。标准使用液每次实验时需现配。

**1.6 定量分析** 采用纯水将标准使用液稀释浓度为 10、25、50、100、250 和 500 μg/L 的标准系列,取 5 mL,用上述方法检测,采用外标法定量。对 DCA 和 TCA 标准系列在最佳实验条件下测定 6 次,取平均值做标准曲线,在 10~500 μg/L 内以 DCA 和 TCA 的浓度为横坐标,以目标化合物峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。根据 DCA 和 TCA 的 3 倍信噪

比计算最低检出限。

**1.7 加标回收试验** 取未检出 DCA 和 TCA 的正常人尿液,分别配成 10.0、50.0 和 250.0 μg/L 3 个加标水平的样品,按照 1.2 处理,每个水平进行 6 次平行试验,计算回收率和精密度。

**1.8 实际样品检测** 用本底无污染的带盖聚乙烯塑料瓶收集南通市某农作物保护有限公司职业体检人群尿液,每份不少于 50 mL,密封保存,尽快送至实验室测定尿比重。采用上述方法检测尿样中 DCA 和 TCA 含量,同时做空白试验和加标回收试验。DCA 和 TCA 的含量根据公式  $X=c \times k \times 10^{-3}$  计算,其中  $X$  为尿样中 DCA 和 TCA 浓度,单位 mg/L;  $c$  为标准曲线中得到的 DCA 和 TCA 含量,单位 μg/L;  $k$  为标准比重下尿质量浓度校正系数。检测结果判定依据 WS/T 96—1996《尿中三氯乙酸顶空气相色谱测定方法》<sup>[9]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 样品前处理条件优化

**2.1.1 乙酸钠浓度** 随着乙酸钠溶液浓度的增加,DCA 和 TCA 的检测信号增强;当乙酸钠溶液浓度超过 10% 时,DCA 和 TCA 的检测信号减弱,因此本研究选择加入 0.5 mL 10% 乙酸钠溶液进行试验。见图 1。

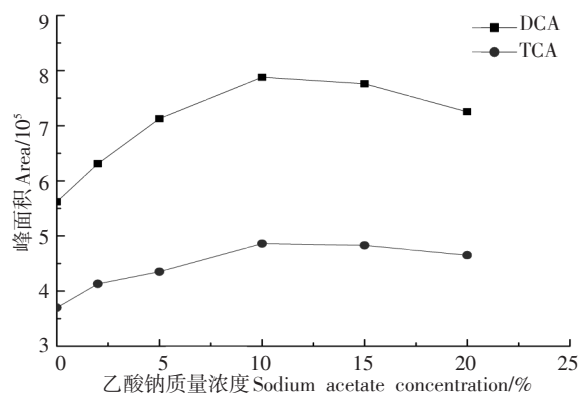


图 1 加入不同浓度乙酸钠溶液 DCA 和 TCA 的检测信号  
Figure 1 Detection signals of DCA and TCA in different sodium acetate concentrations

**2.1.2 顶空平衡温度** 设置顶空平衡时间为 60 min,顶空平衡温度从 70 ℃升至 90 ℃时 DCA 和 TCA 的检测信号明显增强;升至 95 ℃时检测信号虽也有增强,但考虑到温度越高水蒸气挥发越多,会给气相色谱带来较多干扰,因此选择顶空平衡温度为 90 ℃。见图 2。

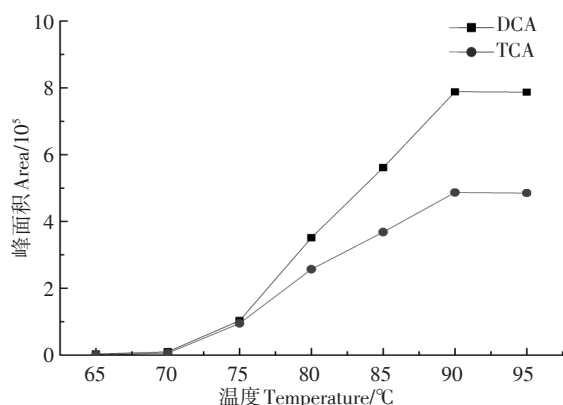


图2 不同平衡温度 DCA 和 TCA 的检测信号

Figure 2 Detection signals of DCA and TCA in different equilibrium temperatures

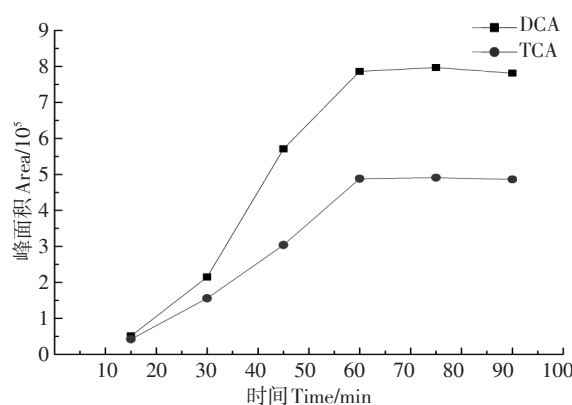


图3 不同平衡时间 DCA 和 TCA 的检测信号

Figure 3 Detection signals of DCA and TCA in different equilibrium time

2.1.3 顶空平衡时间 设置顶空平衡温度为 90 °C时, 随着顶空平衡时间的增加 DCA 和 TCA 的检测信号逐渐增强; 当平衡时间达到 60 min 时检测信号增强不明显, 因此选择顶空平衡时间为 60 min。见图 3。

2.2 色谱条件优化 吸取 5 mL 100.0 μg/L DCA 和

TCA 的混标溶液于顶空瓶中, 按样品前处理和进样分析, 得到 2 种物质的保留时间分别为 4.671 和 6.923 min。本研究采用 HP-INNOWAX 色谱柱, 优化梯度升温条件, DCA 和 TCA 可以在该色谱柱上获得良好的峰形和分离。见图 4。

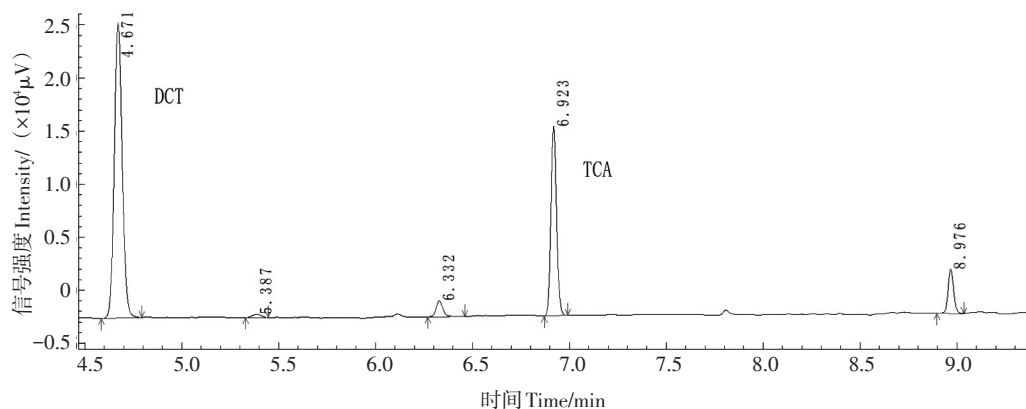


图4 DCA 和 TCA 的标准色谱图

Figure 4 The standard chromatogram of DCA and TCA

2.3 方法学验证 在 10~500 μg/L 内, DCA 和 TCA 的线性关系良好, 相关系数分别为 0.999 0 和 0.999 2, 最低检出限分别为 2.0 μg/L 和 3.5 μg/L。加标回收率为 87.40%~101.44%, 相对标准偏差 (RSD) 为 1.89%~3.25%。见表 1。

2.4 实际样品检测结果 抽检 35 份职业人群尿样, DCA 和 TCA 均未检出。

### 3 讨论

本研究采用 HP-INNOWAX 色谱柱进行组分分离, 优化乙酸钠的加入量、顶空平衡温度和平衡时间等前处理条件, 建立了可同时检测三氯乙烯在人体的

表 1 方法的加标回收率和精密度

Table 1 The recovery rate and precision of the method

化合物 Compound	加标浓度 Spiked concentration/ (μg/L)	测定值 Measured concentration/ (μg/L)	回收率 Recovery rate/%	RSD/%
DCA	10.00	8.74	87.40	3.11
	50.00	50.72	101.44	2.17
	250.00	246.75	98.70	2.23
TCA	10.00	8.98	89.80	3.25
	50.00	49.31	98.62	1.89
	250.00	252.13	100.85	2.14

2种代谢产物DCA和TCA含量的顶空气相色谱法。检测结果显示,尿DCA和TCA回收率为87.40%~101.44%,RSD为1.89%~3.25%,优于WS/T 96—1996《尿中三氯乙酸顶空气相色谱测定方法》(加标回收率为78.0%~105%,RSD为4.7%~9.6%)<sup>[9]</sup>。在职业人群中抽检的35份尿样均未检出DCA和TCA。本方法通过加入乙酸钠可以明显提高DCA和TCA的回收率和灵敏度,而且无需烦琐的酯化衍生反应,样品处理所需时间短,有毒试剂消耗少,是一种环保、高效、适合大批量样品检测的方法。

#### 参考文献

- [1] 刘德坚, 马忠元. 职业接触三氯乙烯引起皮肤和肝脏损害的调查 [J]. 职业与健康, 2007, 23 (23): 2143-2144.  
LIU D J, MA Z Y. Investigation of dermal and liver impairment induced by occupational exposure to trichloroethylene [J]. Occup Health, 2007, 23 (23): 2143-2144.
- [2] 陈华宜, 吴惠刚, 廖国荣. 气相色谱/质谱联用法鉴定一起职业中毒事件中车间空气的毒物 [J]. 中国职业医学, 2002, 29 (5): 46.  
CHEN H Y, WU H G, LIAO G R. Identification of toxicants in the air of workplace in an occupational poisoning accident by gas chromatography/mass spectrometry [J]. Chin Occup Med, 2002, 29 (5): 46.
- [3] 钟逸菲, 马立明, 熊俊, 等. 东莞市 2003—2013 年职业中毒发病情况分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2014, 32 (8): 600-601.  
ZHONG Y F, MA L M, XIONG J, et al. Analysis on the incidence of occupational poisoning in Dongguan from 2003 to 2013 [J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis, 2014, 32 (8): 600-601.
- [4] 阮小林, 黄汉林, 越飞, 等. 衍生化气相色谱法同时测定尿中三氯乙烯的 3 种氯代乙酸代谢产物 [J]. 分析测试学报, 2013, 23 (3): 377-380.  
RUAN X L, HUANG H L, YUE F, et al. Simultaneous determination of three halogenated acetic acids in urine by derivatization gas chromatography [J]. J Instr Anal, 2013, 23 (3): 377-380.
- [5] 李添娣, 易娟, 张文, 等. 顶空气相色谱-质谱联用法测定尿中三氯乙酸 [J]. 中国职业医学, 2013, 40 (1): 68-70.  
LI T D, YI J, ZHANG W, et al. Determination of trichloroacetic acid in urine by head-space-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin Occup Med, 2013, 40 (1): 68-70.
- [6] 赵小彤, 杨海明, 鞠茂伟. 分光光度法测定水样中三氯乙酸的影响因素 [J]. 辽宁科技大学学报, 2015, 38 (5): 351-353.  
ZHAO X T, YANG H M, JU M W. Influence factors of determination trichloroacetic acid in water by spectrophotometry [J]. Liaoning Univ Sci Technol, 2015, 38 (5): 351-353.
- [7] 陈际, 周永芳, 杜双双, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测饮用水中二氯乙酸和三氯乙酸 [J]. 净水技术, 2018, 37 (4): 66-70.  
CHEN J, ZHOU Y F, DU S S, et al. Determination of dichloroacetic acid and trichloroacetic acid in drinking water by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Water Purif Technol, 2018, 37 (4): 66-70.
- [8] 曾钰, 陈军, 王海瑞, 等. 高效液相色谱法测定饮用水中的一氯乙酸和二氯乙酸 [J]. 理化检验-化学分册, 2014, 50 (9): 1173-1174.  
ZENG Y, CHEN J, WANG H R, et al. Determination of monochloroacetic acid and dichloroacetic acid in drinking water by high-performance liquid chromatography [J]. Phys Test Chem Anal (Part B: Chem Anal), 2014, 50 (9): 1173-1174.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 尿中三氯乙酸顶空气相色谱测定方法: WS/T 96—1996 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.  
Ministry of Health of the People's Republic of China. Urine-determination of trichloroacetic acid-headspace gas chromatographic method: WS/T 96-1996 [S]. Beijing: Standards Press of China, 1997.

收稿日期: 2021-08-09 修回日期: 2021-10-28 本文编辑: 田田