

# 离子色谱法测定尿中甲酸的含量

段艳红, 周亮, 伍盼盼

郴州市疾病预防控制中心, 湖南 郴州 423000

**摘要:** **目的** 建立一种简单、准确的检测方法,用于甲醇中毒尿样中甲酸的快速定量分析。 **方法** 取尿样稀释、过膜,采用万通 881 型离子色谱仪进行分析,淋洗液为 0.5 mmol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液,待测物分离柱为 Metrosep Organic Acids 有机酸交换柱,检测器为电导检测器。 **结果** 尿中甲酸的方法检出限为 0.2 mg/L,在 0.5~10.0 mg/L 浓度范围内线性关系良好,相关系数为 0.9997,样品加标回收率在 98.2%~102.7%之间,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 2.8%~4.7%之间。 **结论** 该方法前处理简单,选择性好、准确度高、精密度好,适合尿液中甲酸的快速定量测定,可为甲醇中毒调查和治疗提供参考数据。

**关键词:** 离子色谱法; 甲酸; 尿液

**中图分类号:** R446.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2020)08-1008-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.08.033

## Determination of formic acid content in urine by ion chromatography

DUAN Yan-hong, ZHOU Liang, WU Pan-pan

Chenzhou Municipal Center for Disease Control and Prevention, Chenzhou, Hunan 423000, China

Corresponding author: ZHOU Liang, E-mail: 453613802@qq.com

**Abstract:** **Objective** To establish a simple and accurate method for rapid quantitative analysis of formic acid in urine samples of methanol poisoning. **Methods** The urine samples were analyzed by Metrohm 881 ion chromatograph after diluting and passing

**作者简介:** 段艳红(1984-),女,本科,主治医师,主要从事理化检验工作。

**通信作者:** 周亮, E-mail: 453613802@qq.com。

体 IgG 和 IgM 联合检测有助于早期梅毒诊断和病情严重程度判断, Tp45、Tp17 IgM 抗体有助于梅毒疗效的判断。

### 参考文献

- [1] Lynn WA, Lightman S. Syphilis and HIV: a dangerous combination [J]. Lancet Infect Dis, 2004, 4(7):456-466.
- [2] Peeling RW, Mabey D, Kamb ML, et al. Syphilis [J]. Nat Rev Microbiol, 2017, 2(6):448-449.
- [3] 杨斌, 白顺, 薛耀华, 等. 各期梅毒患者治疗前 IgG、IgA 和 IgM 抗体表达差异的研究 [J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2015, 22(2): 95-98.
- [4] 王文雯, 周雅. 免疫印迹法在老年人梅毒诊断中的应用 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2016, 30(9):922-923.
- [5] 赵玉磊, 乐文静, 朱小凤, 等. 老年可疑梅毒患者血清 Tp15, Tp17, Tp45 和 Tp47 抗体表达分析 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2014, 28(9):921-923.
- [6] 孟俊, 林孝怡, 冯晓静, 等. 梅毒特异性 IgG 和 IgM 检测新方法的临床应用 [J]. 诊断学理论与实践, 2012, 11(6):55-58.
- [7] 张建霞, 赵敏, 刘芳, 等. 深圳市罗湖区 178 例早期梅毒患者规范化治疗后血清学变化 [J]. 中国热带医学, 2019, 19(8):779-780.
- [8] 李频, 郑铁洪, 邱莉霞, 等. 188 例孕早期妊娠梅毒不同疗程治疗后妊娠结局的前瞻性研究 [J]. 实用预防医学, 2018, 25(9): 1093-1095.
- [9] 朱小丽, 张江为. 化学发光免疫分析法检测梅毒抗体在早期梅毒

诊断中的应用价值 [J]. 临床医学研究与实践, 2019, 4(3): 106-108.

- [10] 朱建军, 赵继续, 谢欣, 等. 宜宾市 2007—2016 年 60 岁及以上人群梅毒流行特征分析 [J]. 实用预防医学, 2019, 26(1):55-58.
- [11] 韦善求, 顾国龙. 梅毒螺旋体基因重组抗原及其血清学诊断研究进展 [J]. 检验医学, 2009, 24(9):700-703.
- [12] 邓毅, 雷鸣, 赵飞骏, 等. 梅毒螺旋体重组蛋白在血清学诊断中应用的研究进展 [J]. 山东医药, 2019, 59(23):99-104.
- [13] 郑和平, 覃晓琳, 黄进梅, 等. 免疫印迹法测定 Tp47 蛋白与梅毒患者血清的免疫反应性 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(10): 1327-1329.
- [14] 汪峰, 莫艳萍, 费静娴, 等. 免疫印迹法在献血员梅毒抗体筛查中的应用 [J]. 浙江预防医学, 2015, 27(8):797-800.
- [15] 李荣雪, 高蓓. TP17、CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 在梅毒患者血清中的表达与预后的相关性 [J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(3): 462-463.
- [16] 俞莺, 袁波. 梅毒螺旋体 IgM 抗体在梅毒血清固定中的应用 [J]. 中国性科学, 2013, 22(11):33-36.
- [17] 杨帆, 张荣, 周华, 等. 梅毒螺旋体 IgM 抗体蛋白印迹试验诊断新生儿胎传梅毒的探讨 [J]. 中华皮肤科杂志, 2004, 37(6): 326-328.
- [18] 白顺, 郑和平, 薛耀华, 等. 各期梅毒治疗后 IgG、IgA 和 IgM 抗体谱表达差异检测 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2018, 32(9): 1036-1039.

收稿日期: 2019-12-26

through the membrane. Formic acid was separated by Metrosep Organic Acids analysis column with 0.5 mmol/L sulfuric acid as the eluent, and a conductivity detector was used for the detection. **Results** The detection limit of formic acid in urine was 0.02 mg/L, with a good linear correlation ( $r=0.9997$ ) in the range of 0.5–10.0 mg/L. The recoveries ranged from 98.2 to 102.7%, and the relative standard deviation was between 2.8 and 4.7%. **Conclusions** This method provides easy pre-processing of sample, high selectivity, satisfactory accuracy and good precision, which is suitable for rapid and quantitative determination of formic acid in urine and can provide reference data for investigation and treatment of methanol poisoning.

**Key words:** ion chromatography; formic acid; urine

甲醇急性中毒时,甲醇在人体内经醇脱氢酶氧化代谢为甲醛,甲醛在醛类脱氢酶作用下氧化为甲酸。因此,急性甲醇中毒时,易造成甲酸蓄积,引起酸中毒。部分甲酸可直接随尿排出,因此尿液中甲酸浓度可以反映甲醇的摄入情况,对中毒诊断、治疗以及预后评估有所帮助<sup>[1-2]</sup>。2019 年 3 月,蓝山县塔峰镇五里坪村突发食物中毒事件,疑似甲醇中毒,10 名中毒病人收治于郴州市第一人民医院。本研究的参与人员对中毒病人血液中甲醇进行了检测,结果显示病人血液中均检测出一定浓度的甲醇。临床医生希望能得到病人尿中甲酸浓度,以了解体内甲酸蓄积情况,为临床治疗和预后评价提供帮助。本研究人员通过查阅文献资料<sup>[3-7]</sup>,发现目前尿中或环境中甲酸的测定方法主要有气相色谱法,液相色谱法,通过前期实验发现这些方法需要通过衍生,导致前处理较复杂,需严格控制实验条件,操作不当易影响测定结果的准确性。因此,建立一种更简单、准确、选择性好的尿中甲酸的检测方法,具有一定的现实意义。本研究建立的离子色谱法测定尿中甲酸的方法具有较高的选择性和准确性,只需稀释过膜就可以直接进样,仪器、试剂简单,操作省时省力,能满足突发公共卫生事件快速、准确的测定要求,值得推广。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 仪器设备 Metrohm 881 型离子色谱仪(瑞士万通公司);配备 858 自动进样器,896 电导检测器、IC Net 2.4 工作站;0.22  $\mu\text{m}$  有机系滤膜。

1.1.2 试剂 甲酸(优级纯,≥98.0%,天津试剂研究所);硫酸(优级纯,国药集团有限公司);本实验用水均为电导率≥18.2 M $\Omega$  的去离子水;

1.1.3 样品来源 取郴州市疾病预防控制中心健康体检人员尿液 20 份,于 4  $^{\circ}\text{C}$  下冷藏保存。

### 1.2 方法

1.2.1 溶液的配制 淋洗液的配制:取 0.13 ml 浓硫酸溶于去离子水中,稀释至 1 L,得到 0.5 mmol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  淋洗液,抽滤后使用。标准溶液(1 000 mg/L)

的配制:准确称取甲酸 0.1002 g 于 100 ml 容量瓶中定容,混匀。其它浓度的标准溶液,均在 1 002 mg/L 标准溶液的基础上,用去离子水逐级稀释得到。

1.2.2 色谱条件 色谱柱:Metrosep Organic Acids 有机酸交换柱(250 mm×7.8 mm),Metrosep Organic Acids -Guard 保护柱;柱温:室温;淋洗液:0.5 mmol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ;流速:0.5 ml/min;进样体积:100  $\mu\text{l}$ ,电导检测,保留时间定性,峰面积定量。

1.2.3 样品前处理 取 1.0 ml 尿液于 10 ml 容量瓶中,去离子水定容。取适量体积定容液经 0.22  $\mu\text{m}$  有机系滤膜过滤,弃去前面约 0.5 ml,收集后面过滤液于进样管中待测试。

## 2 结果

2.1 色谱条件优化结果 本次实验选用 Metrosep A supp 4 阴离子交换柱和 Metrosep Organic Acids 有机酸交换柱作比较,分别对同一尿液进行测定,得到色谱图,见图 1 和图 2。从图 1 中可以看出采用 Metrosep A supp 4 阴离子交换柱测定甲酸时,尿液中高本底的氯离子峰对甲酸峰产生干扰。从图 2 可以看出,采用 Metrosep Organic Acids 有机酸交换柱,甲酸峰峰型好且无干扰。

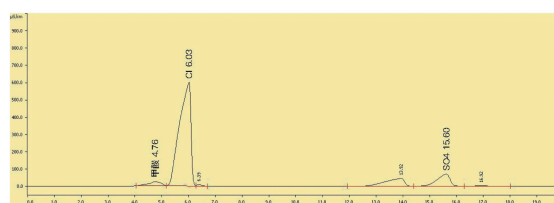


图 1 采用 Metrosep A supp 4 阴离子交换柱分离测定尿中甲酸色谱图

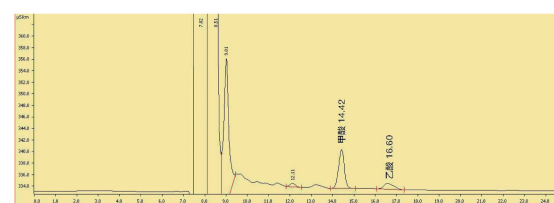


图 2 采用 Metrosep Organic Acids 有机酸交换柱分离测定尿中甲酸色谱图

2.2 线性关系与检出限 分别配制 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L 浓度的甲酸标准溶液进行测定,以甲酸的浓度(x)对谱图中的峰面积(y)作标准曲线,得到线性方程为: $y=0.1872x-0.0382$ ,相关系数为 0.9997。根据方法检出限为信噪比  $S/N=3$  时的实际样品中待测物浓度,得到本方法的检出限为 0.2 mg/L。

2.3 回收率与精密度 选择甲酸本底较低的尿液中加入高、中、低 3 种浓度的甲酸标准溶液,进行加标回收实验,每一种浓度重复实验 6 次,计算出甲酸的回收率范围在 98.2%~102.7% 之间,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 2.8%~4.7% 之间,见表 1。

表 1 尿中甲酸回收率和精密度实验结果

样品 编号	本底值 (mg/L)	加标量 (mg/L)	测定平均值 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
样品 1	4.3	2.0	6.5	102.7	3.7
样品 2	5.0	4.0	9.2	102.3	4.7
样品 3	4.5	8.0	12.3	98.2	2.8

2.4 干扰实验结果 在尿样中加入一定量的氟、氯、硝酸根、硫酸根、甲酸、乙酸常见阴离子,使其稀释过膜后浓度分别为 5.0、50、20、50、5.0、20 mg/L,同样条件下进行测定,得到色谱图,见图 3。从图中可以看出氟离子、乙酸的色谱峰与甲酸峰分离良好,氯、硝酸根和硫酸根未见明显的响应峰。甲酸与相邻杂质峰分离度  $R>1.5$ ,能很好的分离。

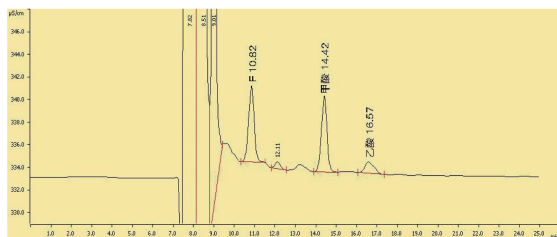


图 3 采用 Metrosep Organic Acids 有机酸交换柱分离测定尿中甲酸干扰实验色谱图

2.5 样品检测结果 应用本方法对郴州市疾病预防控制中心体检科采集的 20 份尿液样品进行了甲酸的分析测定,尿液样品中甲酸的含量范围平均值为 4.3~27.9 mg/L,与崔毅等<sup>[2]</sup>研究结果基本一致。

### 3 讨论

尿液中离子成分较复杂,样品需稀释处理,当尿样稀释 10 倍时,既能获得较低的检出限,又能保证较低的背景干扰。

由于尿液中干扰离子较多,选用普通的阴离子柱,所有阴离子都有响应,尤其较灵敏的氯离子响应太高,会

对甲酸检测造成干扰。从本方法的重复性实验和干扰实验,可以看出方法有较好的选择性,其原因主要是本方法选择了有机酸交换柱,在分离过程中它对阴离子保留性不强,而对有机酸类有较强的选择性保留,从而不需要过多净化过程,30 min 内可完成测定,能满足急性中毒事件的检测速度要求。

从实际健康体检者的尿样检测中可以看出,尿样中甲酸检测范围为 4.3~27.9 mg/L,平均甲酸含量为  $(11.99 \pm 5.98)$  mg/L,远高于方法的检出限(0.2 mg/L),且本方法的线性相关系数为 0.9997,回收率为 98.2%~102.7%,RSD 为 2.8%~4.7%,说明本方法能准确定量分析尿中甲酸含量。

本方法是在中毒事件后 2 个月建立,实验发现尿样在 4℃ 条件下保存 1 周,甲酸值有较大波动,而中毒尿样保存达 2 个月之久,虽然测定值超出正常值范围,但预计与初始值相差较大,所以未能得到实际中毒尿样中甲酸的准确含量。本研究测定了尿样中甲酸的正常值范围,与崔毅等<sup>[2]</sup>研究的液相色谱法测定的正常值范围接近(均值 15.67 mg/L,标准偏差为 6.01 mg/L)。尿中甲酸含量升高与人接触甲醇、甲醛有直接关系,尿中甲酸的含量可作为接触甲醇和甲醛的生物学指标<sup>[9-10]</sup>,甲醇中毒病人甲酸升高后,可根据正常值来判断是否偏高,从而为甲醇中毒提供临床依据。

### 参考文献

- [1] 王喆,邱泽武. 急性甲醇中毒的现状与诊治进展[J]. 中国临床医生, 2012, 40(8):22-23.
- [2] 崔毅,邵薇,门金龙. 尿甲酸正常值的探讨[J]. 化工劳动保护, 1993, 14(1):13-14.
- [3] 诸建辉,林福云,陈楚良,等. 顶空气相色谱法测定尿中甲酸[J]. 中华预防医学杂志, 2000, 34(5):307.
- [4] 朱连华,王法弟,王学才,等. 顶空气相色谱法测定尿中甲酸浓度的方法研究[J]. 环境与职业医学, 2005, 22(1):22-23.
- [5] 李士永. 工作场所空气中甲酸、乙酸离子色谱检测方法的研究[J]. 实用预防医学, 2014, 21(2):160-163.
- [6] 冯斌,邵华,程学美,等. 高效液相色谱法测定尿中甲酸和乙酸[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(2):207-208.
- [7] 赵好,查霞霞,赵士权. 自动顶空-气相色谱法测定工作场所空气中甲酸和乙酸[J]. 理化检验(化学分册), 2017, 53(5):572-574.
- [8] 章骅,马兴,王永芳. 离子色谱法测定白酒、果汁及牛奶的甲酸[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(2):166-0168.
- [9] 林之梅. 尿中甲酸作为职业性接触甲醇和甲醛的指标[J]. 国外医学(卫生学分册), 1988, 1988(1):45-46.
- [10] 冯斌,邵华,单永乐. 尿甲酸在职业病危害评价中作为甲醛生物标志物的意义[J]. 职业与健康, 2012, 28(6):680-681.

收稿日期:2019-09-16