

• 专题交流 •

气相色谱法测定苯接触工人的血苯含量

徐麦玲¹ 陆爱玲² 丁 钱¹

长期接触高浓度苯引起骨髓造血损伤,甚至诱发白血病已为人们所熟悉,为此许多生产工艺进行改革,尽量不用苯,或用甲苯、二甲苯替代。近有报告,长期接触低浓度苯(5~75mg/m³)可致染色体异常和淋巴细胞转化率减少。因此,苯对人体的危害尚需深入研究。目前对工作环境中苯浓度的测定、呼出气苯含量的测定等均为一个苯接触的间接相关指标。体内苯代谢产物尿酚的定量虽可作为苯吸收的指标,但在低浓度接触时(<5ppm),由于受内源性酚类的干扰,显得不敏感。血苯含量的测定是一个敏感而特异的苯吸收指标。气相色谱技术的发展,使生物体液中微量挥发性苯的定量分析成为可能。我们复习文献后,对气相色谱法测定血苯的方法进行摸索,现介绍如下。

材料和方法

一、材 料

1. 试剂:苯(分析纯)。

2. 仪器:103型气相色谱仪,氢火焰检测器(上海分析仪器厂),恒温水浴箱。

二、方 法

1. 含苯标准血样的制备:100ml 蒸馏水置于100ml长颈玻璃容器瓶中,加入10ml苯,充分混和,取一定量加入血库库血中,配制成4.23、8.46、11.28和22.56nmol/ml的含苯标准血样。各取1ml置于容量为17ml的玻璃瓶中,立即用包被聚四氟乙烯薄膜的橡皮盖盖上,外包上反口橡皮盖,并用橡皮筋捆紧反口橡皮与玻璃瓶接触处,即配制成一系列含苯的标准血样。同时将1ml蒸馏水和1ml空白血分别如上述方法装封于玻璃瓶中。

2. 苯接触工人血样的采集:对某工厂接触苯的工人在上岗2.5小时后,立即采集该车间空气50ml,置于50ml玻璃针筒中,针筒口用橡皮盖封好,留待车间空气中的苯浓度测定。同时采集8名在岗工人的静脉血1ml,玻璃针筒先肝素化。如上所述将血样装封于玻璃瓶中,留待检测血苯浓度。

3. 先将实验室空气2ml注入气相色谱仪,再将空气稀释的苯蒸气2ml注入分析仪,以确定苯的色谱峰的保留时间。本方法以苯峰保留时间定性。

4. 样品的处理:将盛有血样品的密封玻璃瓶置

于37℃恒温水浴中,加热60分钟后,取液面上层的气体2ml进样分析。计算苯色谱峰的峰高与苯浓度4.23、8.46、11.28和22.56nmol/ml的线性回归方程式。苯接触工人血样中苯色谱峰的高度代入回归方程式,求得血样中苯的含量。

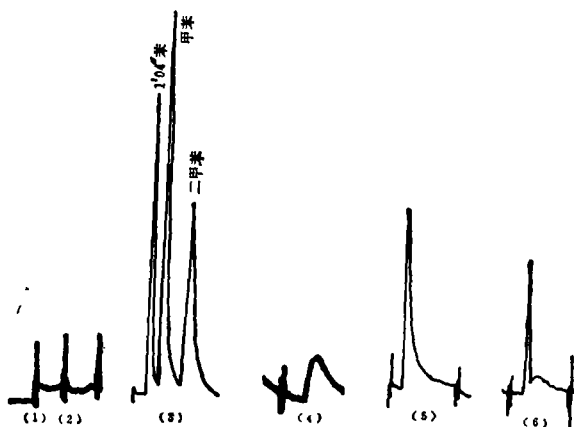
5. 色谱分离条件:色谱柱, 不锈钢柱(2m×4mm);载体, 5%6201担体, 60~80目;固定液, SE-30;载气,氮气,流速40ml/分;燃烧气,空气流速400ml/分,氢气40ml/分;进样室温度120℃,柱箱温度108℃,检测器温度160℃。

结 果

1. 实验室空气进样,未见色谱峰出现,见图1(1)。

2. 稀释苯、甲苯和二甲苯蒸气进样,苯色谱峰保留时间1'04",未见明显拖尾现象,见图1(3)。

3. 蒸馏水气层气体色谱图上,未出现色谱峰,见图1(2)。空白血气层气体进样,苯峰处未见色谱峰出现,在其后出现一个低宽的拖尾色谱峰,见图1(4)。



(1)实验室空气 (2)蒸馏水 (3)三苯 (4)空白血
(5)含苯标准血样 (6)接触苯工人的血样

图1 本文条件中苯、甲苯、二甲苯和血苯的色谱峰

4. 苯的标准血样,在苯峰的保留时间处可见苯的色谱峰,苯峰后有拖尾现象,与空白血中出现的低

1.上海医科大学华山医院职业病科(200040)

2.上海市第六人民医院职业病科

宽峰相吻,见图1(5)。苯接触工人的血样中也有类同情况存在,见图1(6)。

5. 苯标准血样中苯色谱峰高与浓度的回归方程式 $H(\text{峰高}) = 0.5117 + 2.1381 \cdot C(\text{浓度})$, 相关系数 $r = 0.9945$, $P < 0.01$ 。苯标准血样中苯的最低检出限为 0.42 nmol/ml (图2)。

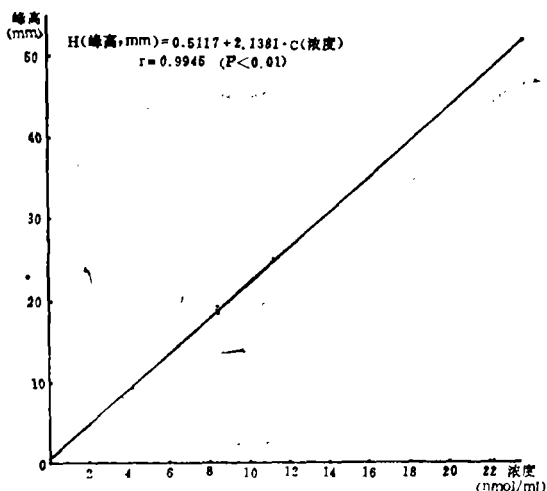


图2 含苯标准血样的色谱峰高线性关系
(每个浓度做3个样品进样)

6. 苯接触工人车间空气中苯浓度为 182 mg/m^3 。8名苯接触工人上岗2.5小时后的血苯含量为 $5.25 \sim 12.30 \text{ nmol/ml}$ (表), 从中可见随接触时间增加, 血苯含量也随之增加。

接触苯工人的血苯含量

工人编号	车间空气中苯浓度 (mg/m^3)	接触时间 (分)	血苯含量 (nmol/ml)
1	182	150	6.79
2	182	155	5.25
3	182	160	8.46
4	182	168	8.46
5	182	170	9.87
6	182	174	12.30
7	182	177	11.28
8	182	180	10.90

讨 论

1. 苯对人体的危害已众所周知。工业用甲苯、二甲苯常混有不等量的苯, 已有报道即使经反复蒸馏提纯的甲苯, 苯浓度仍可达 $0.51 \mu \text{mol/l}$ 。因此, 在用甲苯、二甲苯替代苯的生产工艺中, 工人仍有可能引起慢性苯中毒。对低浓度苯接触者, 要了解体内苯的吸收和代谢情况, 进一步研究其毒性, 必须寻求敏感性高、特异性强的生物学监测指标。国外有人报道工人接触苯 1 ppm , 用高效液相色谱法未能检出尿酚, 而血苯可用色谱法检出。血苯含量的测定是一个敏感而特异的苯吸收的直接指标。

2. 苯是一个极易挥发的有机溶剂。70年代初陆续出现用气相色谱法测定血苯含量的方法报道。最初用微量血样直接进样, 方法简便、快速, 但由于血样中组分复杂, 可造成柱的污染, 影响柱的使用寿命。继之用有机溶剂甲苯之类提取血样品中苯, 然后用提取液进样, 进行色谱分析, 测定血苯含量, 但在标本处理中, 微量苯极易丢失, 而限制了血苯检测的敏感性和重现性。近年来多数报告采用液面上层气体技术检测血苯。为了减少上层气体在加温处理过程中苯的丢失和样品的污染的可能, 国外有人专门研究了该技术中样品处理和保藏的方法, 提出容器宜选用玻璃、聚四氟乙烯或铝箔制品, 并应有严密的密闭措施。我们采用玻璃瓶和聚四氟乙烯包被的橡皮盖, 避免气层直接与橡皮接触, 取得了满意的效果。

3. 本文介绍的血样采集、样品转移、装封方法、样品处理和气相色谱分析条件, 空白血未见内源性色谱峰干扰苯色谱峰 (图1)。血苯的最低检测限为 0.42 nmol/ml , 一系列含苯标准血样中苯的浓度与峰高呈现非常显著的线性相关, $r = 0.9945$, $P < 0.01$, 且同一苯浓度血样的色谱峰高重现性好 (图2)。苯、甲苯和二甲苯在本色谱分析条件中分离好 (图1(3))。本文的苯接触工人在生产中虽接触少量乙醇和丙酮, 但并不干扰测定。本法具有特异性强、灵敏度高和重现性好的优点, 可用来作为苯接触工人生物学监测的一个客观而直接的吸收指标。

(上接第163页)

(DBCP). Bull Environ Contam Toxicol 1987; 23:703.

37. 张法忠, 等。二溴氯丙烷致男性不育症的动态观察。中华劳动卫生职业病杂志1988;6(6):334.

38. Schwartz DA, et al. Parental occupation and birth outcome in an agricultural community

Scand J Work Environ Health 1986; 12:51.

39. Vaughan TL, et al. Fetal death and maternal occupation: an analysis of birth records in the state of Washington. J Occup Med 1984; 26:676.

40. Rita P, et al. Monitoring of workers occupationally exposed to pesticides in grape gardens of Andhra Pradesh. Environ Res 1987; 44:1.