

3 讨论

Clara 细胞是指排列在细支气管黏膜上的无纤毛立方上皮细胞,属分泌细胞,其分泌的一种相对分子量为 15 840 的内源性抗炎因子 CC16,具有抗炎、抗氧化、抗纤维化、免疫调节及肿瘤抑制等作用^[1,3]。该蛋白是 Clara 细胞损伤的一个较敏感的指标,其含量的改变可早期地反映呼吸道黏膜上皮细胞的损伤状况,多种原因导致的气道炎症,均使 Clara 细胞数量下降,CC16 分泌减少^[3]。本研究显示,壹期和贰期矽肺组 BALF 中 CC16 含量均明显低于对照组 ($P < 0.05$),考虑二氧化硅粉尘可引起肺部炎症性损伤,随着接尘时间延长肺部炎症逐渐加重,致使 Clara 细胞超微结构破坏,数量减少,从而引起 BALF 中 CC16 的含量降低。此外,活化的肺泡巨噬细胞释放的细胞毒素以及粉尘毒性和表面自由基对肺泡上皮的损伤也会使 Clara 细胞数量减少,使其分泌的 CC16 降低。实验中发现壹期和贰期矽肺组 CC16 含量较叁期矽肺组降低 ($P < 0.05$),这可能与 CC16 的自身代偿、抗氧化及对支气管上皮细胞损伤的修复作用有关^[4]。

IFN- γ 是由激活的淋巴细胞、自然杀伤 (NK) 细胞产生的小分子多肽,具有抗感染、抗炎、抗氧化、促进巨噬细胞及单核细胞介导的细胞毒反应,协同清除病原体并具有抗纤维化作用,主要通过抑制和竞争 TGF- β 分子信号传导途径来实现^[5]。同时,IFN- γ 也是创伤或感染后机体最早产生的多功能细胞因子之一,主要介导与细胞毒和局部炎症有关的免疫应答,调节急性炎症发展的方向与转归。本研究发现,矽肺壹期组 IFN- γ 水平低于对照组 ($P < 0.01$),但贰期、叁期组高于壹期组 ($P < 0.01$),叁期组高于贰期组 ($P > 0.05$)。可能的原因为机体在消除炎症、组织修复的防御反应中,大量消耗 IFN- γ ,从而引起矽肺患者 IFN- γ 的水平明显降低;随着肺纤维化程度增高,机体由于代偿或自身保护作用,引起 IFN- γ 等抗纤维化因子分泌加强,调节成纤维细胞增殖及胶原合成,抑制纤维化发展^[6]。

表 2 显示矽肺患者 IFN- γ 和 CC16 的水平在接尘初期增高,提示在炎症的起始阶段和激化阶段 IFN- γ 和 CC16 可能发挥着重要的作用,随粉尘接触时间的延长而降低,二者可能具有协调作用并呈正相关。Fisher 等^[7] 研究显示 CC16 能够抑制 IFN- γ 等许多炎症因子的生成及活性,同时 CC16 的表达又能够被 IFN- γ 上调。联合监测矽肺患者 BALF 中 IFN- γ 和 CC16 的浓度,对矽肺的早期诊断和预后的判断可能具有一定的参考价值。

参考文献:

- [1] 聂小蒙,李强. Clara 细胞蛋白—CC16 [J]. 国外医学呼吸系统分册,2004,24: 97-99.
- [2] Pilette C, Goddard V, Kiss R, *et al.* Reduced epithelial expression of secretory component in small airways correlates with airflow obstruction in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163: 185-194.
- [3] 刘萍,王世鑫,陈雷,等. 矽肺患者血清克拉拉细胞蛋白和表面活性蛋白 D 的改变 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2007,25 (1): 18.
- [4] Halatek T, Opalska B, Rydzynski K. Pulmonary response to methyleclopentadienyl manganese tricarbonyl treatment in rats: injury and repair evaluation [J]. Histol Histopathol, 2006, 21 (11): 1181-1192.
- [5] Utsugi M, Dobashi K, Koga Y, *et al.* Glutathione redox regulates lipopolysaccharide-induced IL-12 production through p38 mitogen-activated protein kinase activation in human monocytes: role of glutathione redox in IFN- γ priming of IL-12 production [J]. J Leukoc Biol, 2002, 71 (2): 339-347.
- [6] Lasky J A, Ortiz L A. Antifibrotic therapy for the treatment of pulmonary fibrosis [J]. Am J Med Sci, 2001, 322 (4): 213-221.
- [7] Fisher C E, Ahmad S A, Fitch P M, *et al.* FITC-induced murine pulmonary inflammation: CC10 up-regulation and concurrent Shh expression [J]. Cell Biol Int, 2005, 29 (10): 868-876.

电感耦合等离子体质谱法间接测定粉尘中游离二氧化硅含量

Indirect determination of free silicon dioxide in dust with inductively coupled plasma mass spectrometry

刘园¹, 周婉笛¹, 李亚慧¹, 白玉萍^{1,2}, 刘英莉^{1,2}, 刘楠^{1,2}

(1. 河北联合大学公共卫生学院, 河北 唐山 063000; 2. 河北省煤矿卫生与安全重点实验室, 河北 唐山 063000)

摘要: 采用焦磷酸消解试样,经过滤,将游离二氧化硅分离,利用氢氟酸溶解硅酸盐测得全硅,用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 仪分别测得消解液和滤液中的硅,间接测得游离二氧化硅含量。硅在 0~1 000 $\mu\text{g/L}$ 内呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 5$),方法的检出限小于 0.35 $\mu\text{g/L}$,试样加标回收率在 91.35%~108.16%,精密度小于 3.41%。该方法快速、准确、灵敏、简便,适用于工作场所粉尘中游离二氧化

硅含量的测定。

关键词: ICP-MS; 粉尘; 游离二氧化硅

中图分类号: R134.4 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2014)01-0067-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.01.031

我国职业卫生标准规定,粉尘中游离二氧化硅 (SiO_2) 含量是确定粉尘浓度是否超过职业接触限值的依据^[1],测定粉尘中游离 SiO_2 含量成为粉尘监测工作中的一项重要内容^[2]。目前,工作场所粉尘中游离 SiO_2 含量的测定方法 (GBZ/T192.4—2007) 有焦磷酸重量法、红外分光光度法和 X 射线衍射法^[3],用电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS)

收稿日期: 2013-05-15; 修回日期: 2013-05-30

作者简介: 刘园 (1990—),女,2010 级本科生。

通讯作者: 刘楠,助理研究员,从事劳动卫生与职业病研究。

测定粉尘中游离 SiO_2 含量尚未见报道。国家标准规定的首选方法“焦磷酸重量法”虽具有不可替代的优点,但该方法耗时较长、操作步骤繁多,可引入误差的因素也很多。本研究选择对样品溶解后的操作过程进行改进,摸索 ICP-MS 测定总硅及滤液硅的仪器条件,寻找一种有效、快速适于测定粉尘中游离 SiO_2 含量的实验方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS 7500 a, 美国 Agilent 公司); 万分之一电子天平 (德国 METTLER TOLEDO 公司); MilliQ G 型超纯水机 (美国 Millipor 公司); 马弗炉 (北京美诚科贸集团); 容积 10 ml 瓷坩埚 (在 10% HNO_3 溶液浸泡过夜,用去离子水洗净烘干备用); 长颈漏斗慢速定量滤纸; 300 $^{\circ}\text{C}$ 温度计; 可调电炉; 100 目铜筛。

1.2 试剂

超纯水 (电阻率 18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$); 质量浓度均为 10 $\mu\text{g/L}$ 的质谱调谐液 Li、Y、Ce、Tl、Co (美国 Agilent 公司); 内标溶液: Se、Ge、Y、In、Tb、Bi, 密度 = 0.01 g/L (美国 Agilent 公司); ICP-MS 用气为优级氩 (99.999%); 硅标准储备液 (500 $\mu\text{g/ml}$); 焦磷酸 (将 85% 磷酸加热, 温度在 245 ~ 250 $^{\circ}\text{C}$ 不冒泡为止, 放冷, 贮于试剂瓶中); 硝酸铵; 0.1 mol/L 盐酸溶液 (取浓盐酸 0.9 ml, 加水稀释至 100 ml); 氢氟酸。

2 方法与结果

2.1 仪器参数的优化

使用质谱调谐液对仪器条件进行优化, 使仪器灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等各项指标达到测定要求, 仪器参数如表 1 所示。

表 1 7500a 型电感耦合等离子体质谱工作参数

操作参数	工作条件	操作参数	工作条件	操作参数	工作条件
载气流速	1.12 L/min	采样模式	Spectrum 全定量	蠕动泵提升速度	0.3 r/min
采样深度	5.8 mm	扫描方式	跳峰	提升时间	30 s
射频功率	1360 W	氧化物	$\text{CeO}^+/\text{Ce}^+ < 0.5\%$	蠕动泵平衡速度	0.1 r/min
雾化器	Barbinton	双电荷	$\text{Ce}^{2+}/\text{Ce}^+ < 2\%$	平衡时间	30 s
雾化温度	2 $^{\circ}\text{C}$	内标元素	^{45}Sc	积分时间	0.3 s
采样锥/截取锥	镍锥	质量分辨率	0.65 ~ 0.8 amu	重复次数	3 次

2.2 标准曲线的配制

精密吸取 500 $\mu\text{g/ml}$ 硅标准储备液 1 ml, 超纯水定容至 100 ml 容量瓶中, 配制 5 $\mu\text{g/ml}$ 硅标准应用液, 分别精密吸取该应用液 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 ml 至 100 ml 容量瓶中, 用超纯水定容至刻度, 即得含硅 0、100、250、500、1000 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液。按表 1 条件测定上述溶液。测定的结果以浓度为横坐标 (X), 峰高为纵坐标 (Y) 绘制工作曲线。线性方程: $Y = 9.640\text{E}^{-003}X + 3.324\text{E}^{-001}$, $r = 0.9995$, 表明硅在 100 ~ 1000 $\mu\text{g/L}$ 内呈良好的线性关系。

2.3 样品的处理

2.3.1 将采集的粉尘样品放在 (105 ± 3) $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱内干燥 2 h, 稍冷, 贮于干燥器备用。如果粉尘粒子较大, 需用玛瑙研钵研磨至手捻有滑感为止, 过 100 目铜筛。

2.3.2 准确称取 0.100 0 ~ 0.200 0 g (G) 粉尘样品 2 份, 一份置于 15 ml PET 样品瓶中, 加入氢氟酸溶解二氧化硅, 放置过夜, 以保证分解完全, 用 ICP-MS 法测定样品中总硅的总量 (M_1); 另一份于 25 ml 锥形瓶中, 加入 15 ml 焦磷酸及数毫克硝酸铵, 搅拌, 使样品全部湿润, 将锥形瓶放在可调电炉上, 迅速加热到 245 ~ 250 $^{\circ}\text{C}$, 同时用带有温度计的玻璃棒不断搅拌, 保持 15 min。

2.3.3 取下锥形瓶, 在室温下冷却至 40 ~ 50 $^{\circ}\text{C}$, 加 50 ~ 80 $^{\circ}\text{C}$ 的蒸馏水至 40 ~ 45 ml, 一边加蒸馏水一边搅拌均匀。将锥形瓶内容物小心转移入烧杯, 并用热蒸馏水冲洗温度计、玻璃棒和锥形瓶, 洗液倒入烧杯中, 加蒸馏水至 150 ~ 200 ml。取慢速定量滤纸折叠成漏斗状, 放于漏斗并用蒸馏水湿润。

将烧杯放在电炉上煮沸内容物, 稍静置, 待混悬物略沉降, 趁热过滤, 滤液不超过滤纸的 2/3 处。过滤后, 用 0.1 mol/L 盐酸洗涤烧杯, 并移入漏斗中, 将滤纸上的沉渣冲洗 3 ~ 5 次, 再用热蒸馏水洗至无酸性反应为止 (用 pH 试纸试验)。上述过程应在当天完成。滤液离心后用 ICP-MS 仪测定硅含量 (M_2)。

2.3.4 粉尘中游离 SiO_2 的计算公式为 $W = \frac{M_1 - M_2}{G} \times 100\%$

式中: W ——粉尘中游离 SiO_2 的含量 (%),

M_1 ——总硅含量 (g),

M_2 ——滤液中的硅含量 (g),

G ——粉尘样品质量 (g)。

2.4 检出限与仪器精密度试验

取空白溶液测定 11 次, 按照 IUPAC 规定, 以 3 倍标准偏差对应的浓度值作为检出限, 由标准曲线经计算得到 LOD 为 0.35 $\mu\text{g/L}$ 。取硅标准液 (500 $\mu\text{g/L}$), 重复测得 7 次, $RSD = 1.9\%$, 表明仪器精密度良好。

2.5 ICP-MS 法测定粉尘中游离 SiO_2 的含量

本研究用 ICP-MS 方法对煤尘进行游离 SiO_2 含量的平行样测定, 结果表明改进后的方法测定结果有较好的平行性 (表 2), 回收率见表 3。

表 2 ICP-MS 法测定粉尘中游离二氧化硅含量的结果 %

粉尘类别	样品 1	样品 2	样品 3	RSD
煤尘	9.0	7.6	8.1	0.7

注: 样品 1、2、3 为平行样。

(下转第 71 页)

表 2 2005—2012 年兰州市企业职业健康检查异常情况

年度	检测人数	异常检出人数	检出率(%)
2005	127	58	45.7
2006	741	213	28.7
2007	287	97	33.8
2008	641	148	23.1
2009	359	205	57.1
2010	403	269	66.7
2011	733	353	48.2
2012	653	276	42.2

2.3 接触不同职业有害因素人群分布情况

2005—2012 年职业健康体检人群接触的有害因素主要有苯、粉尘、锰、噪声及其它,随着体检人数的增加,接触不同职业有害因素的人数也在增加。见表 3。

3 讨论

本次调查结果显示,2005—2012 年间在兰州市疾控中心进行职业健康检查的企业逐年增多,职业健康实检率从 37.9% 提高到 93.6%。表明越来越多的企业和职工认识到了职业健康检查的重要性。但总体来说,兰州市的职业健康体检率还很低,我们所整理出的实检率,仅就体检单位而言,而有相当数量的用人单位根本未组织职工体检,对于岗前体检和离岗时体检更是一无所知。据近年资料分析,全国县级以上企业职业健康体检率已达 30% 左右,而兰州市的企业职业健康体检率仅不到一成。一些企业采取短期用工制度,接

表 3 2005—2012 年兰州市职业健康体检人群

接触有害因素分布情况

年份	苯	粉尘	锰	噪声	其它	合计
2005	44	8	21	24	30	127
2006	117	62	59	67	436	741
2007	99	96	44	4	44	287
2008	68	237	84	90	162	641
2009	46	148	56	69	40	359
2010	126	93	58	58	68	403
2011	91	197	103	226	116	733
2012	264	122	102	105	63	656
合计	855	963	527	643	959	3 947

触职业病危害因素的农民工流动性大,造成职业健康体检无法连贯进行。还有部分企业为避免责任和节约经费,只选取部分“工人代表”参加职业健康检查,应引起相关部门高度重视。

调查还显示,兰州市职业病危害主要集中在苯、粉尘、锰、噪声等有害因素,随着经济的发展及体检人数的增多,接触各类有害因素的人数在逐年增加。因此,针对我市职业卫生现状,应加大安全监督管理和卫生监督等部门的执法力度,检查督促企业做好职业病防护工作,加强宣传教育,普及职业卫生相关知识。职业卫生技术服务机构及职业健康监护机构应努力提高技术水平及服务能力,为企业和劳动者提供科学准确的卫生技术服务,早期发现职业危害,避免和减少劳动者健康损害,切实保障广大劳动者的利益。

(上接第 68 页)

表 3 ICP-MS 法测定粉尘中游离二氧化硅的加标回收率

本底值(mg)	加标量(mg)	测定值(mg)	RSD(%)	回收率(%)
8.25	10.30	19.39	3.41	108.16
8.26	9.91	17.53	2.84	93.70
8.24	50.22	54.11	2.59	91.35

3 讨论

3.1 试剂和样品瓶的选择

由于 ICP-MS 仪器具有动态线性范围宽、检出限低、灵敏度高的特点,其对试剂的纯度和器皿的洁净程度要求严格。选择同一硅标准溶液分别置于 PET 材质样品瓶和玻璃瓶中保存,2 周后测定溶液硅浓度,玻璃瓶中的硅稳定性不好,玻璃器皿不宜盛装硅测定的样品,并且时间不宜过长;PET 材质样品瓶暂储样品,避免被测元素损失、减少污染。

3.2 焦磷酸熔融粉尘时的温度因素

此时操作规程要求温度必须控制在 245 ~ 250 ℃,保持 15 min,这个步骤是整个分析过程的关键。操作过程中,温度偏低,粉尘中的硅酸盐溶解不彻底,影响测定结果的准确性;温度过高,易使焦磷酸形成胶状沉淀,试液不易过滤,实验结果偏高,引起正误差。

3.3 干扰及消除

ICP-MS 分析技术的干扰主要有氧化物、双电荷、多原子离子、质量歧视效应、基体抑制、物理效应等。本研究采用优化仪器条件、选择适宜内标元素、干扰校正方程等方法加以消除。采用仪器工作站提供的 EPA200.8 方法推荐的标准干扰校正方程扣除干扰,可进行自动校正,提高了方法的准确性。

3.4 方法研究的特点

采用 ICP-MS 法间接测定工作场所粉尘中游离 SiO₂ 含量,在工作量大、样品多的情况下绘制好标准曲线后,可连续不间断地分析样品,分析时间短,数据得出快,工作量小。通过对焦磷酸法步骤的细化和改进,大大减少了误差发生的可能性,提高了实验的安全性和可操作性。

参考文献:

- 闫跃进,刘建超,毕勇毅,等.呼吸性粉尘监测技术与防治方法[M].武汉:中国地质大学出版社,1998:266-279.
- 李凤苏.影响粉尘中游离二氧化硅含量测定的主要因素及改进[J].中国卫生检验杂志,2008,18(9):1914-1939.
- GBZ/T192.4—2007,工作场所空气中粉尘测定第4部分:游离二氧化硅含量[S].