

反相高效液相色谱法测定空气中1,6-亚己基二异氰酸酯

Determination of 1,6-hexamethylene diisocyanate in air by reverse phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC)

麦剑平, 许启荣, 舒友梅, 刘移民

(广州市第十二人民医院, 广东 广州 510620)

摘要: 以1-(2-吡啶基)哌嗪 [1-(2-P)P] 作为吸收液, 使用安捷伦 1100 型高效液相色谱仪, 选择反相 HPLC 系统及 Diamonsil C18(2) 柱, 当流速为 0.6 ml/min 时, 利用 1,6-亚己基二异氰酸酯 (HDI) 与 1-(2-P)P 反应生成稳定的尿素衍生物, 后者在 DAD 检测器 254 nm 处有强烈吸收, 其吸收值与含量呈正比, 对 HDI 进行测定。结果显示, 浓度在 0~5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内具有良好的线性关系, 线性回归方程 $Y=370.4X+13.2$, 相关系数 $r=0.9997$, 最低检测浓度为 0.25 $\mu\text{g}/\text{L}$, 重现性试验相对标准差 (RSD) 为 5.65%~8.68%, 试验回收率为 93.5%~103.5%, 样品贮存 14 d, 稳定性 >95%。使用 C18 柱 DAD 高效液相色谱法对 1-(2-P)P 吸收液中的 HDI 进行检测是一种简单、快速、准确、环保且易于普及推广的方法。

关键词: 1,6-亚己基二异氰酸酯; 高效液相色谱法; DAD 检测器; C18 柱

中图分类号: R115; R446 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2015)05-0359-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2015.05.016

1,6-亚己基二异氰酸酯 (HDI) 是生产聚氨酯涂料及聚氨酯弹性体的重要原料, 是脂肪族二异氰酸酯 (ADI) 中最重要单体, 约占 ADI 总需求量的 60%。HDI 广泛应用于国民经济的各个部门, 如高档建筑涂料、汽车面漆、飞机船舶涂装及军工领域固体火箭推进剂和包覆层、工业产品外壳涂料, 以及木器、塑料、皮革等方面, 也用作干性醇酸树脂交联剂和合成纤维的原料^[1]。近年来, HDI 已成为聚氨酯工业重要的高档原材料之一, 也是继甲苯二异氰酸酯 (TDI)、4-苯基异氰酸酯 (MDI) 和多亚甲基多苯基多异氰酸酯 (PAPI) 之后需求量较大的异氰酸酯品种之一。与 TDI 不同的是, 由于 HDI 为脂肪族异氰酸酯, 异氰酸酯基团没有直接与苯环上碳原子相连, 使得生产的树脂或涂料固化剂、胶粘剂等具有不变黄、快干、机械性能好以及耐化学、保光、抗粉化和良好的耐候性等一系列优异性能^[2], 所以在车辆表面整修中,

HDI 几乎已成为油漆和涂料聚氨酯产品的专用配方^[3]。HDI 具有强烈的眼睛、鼻、咽喉和肺部刺激性, 与呼吸道过敏和相关职业性哮喘有关^[4,5]。HDI 的挥发性较大, 并有一定的毒性, 在加热或一定压力或通风不足的情况下, 会因职业性接触而影响人体健康, 故必须加以控制。目前我国甚至欧盟还没有 HDI 空气检测标准方法。本研究利用 DAD 高效液相色谱法建立一种灵敏、精密度高、特异性强、消耗低且操作简便的检测吸收液中 HDI 的方法, 为将来制定检测空气中 HDI 国家标准方法提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 试剂 甲醇、甲苯均为 AR 级。醋酸铵 (AR) 溶液, 2 g/L 水溶液 (0.026 mol/L)。1-(2-吡啶基)哌嗪 (0.01 mol/L) 衍生剂溶液, 准确称取 1-(2-吡啶基)哌嗪衍生剂 81 mg 倒入 50 ml 容量瓶中, 以 CH_2Cl_2 稀释至刻度。吸收液^[6], 配制 0.02 mol/L 1-(2-吡啶基)哌嗪液, 置棕色瓶于冰箱可贮存数月, 吸取 5 ml 以甲苯稀释至 500 ml, 该液浓度为 0.2 mmol/L, 作为采样吸收液。

1.1.2 HDI 标准转化液 HDI 标准液 (Dr, Ehrenstorfer GmbH, Germany), 将 100 μg HDI 标准贮备液置 10 ml 容量瓶以 0.01 mol/L 衍生剂溶液稀释至刻度, 振摇, 该液即为 HDI 的尿素衍生物标准液, 含量为 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 临时使用时再以 CH_2Cl_2 进行稀释, 冰箱保存可稳定数月。

1.1.3 仪器及条件 安捷伦 1100 型高效液相色谱仪, 备有 G1315B 型 (DE 40521301) DAD 检测器, 选择 Diamonsil C18 (2) 柱。QCD-1500 型大气采样仪 (0~2.0 L/min)。小型冲击式吸气管。

1.2 方 法

1.2.1 实验原理 HDI 与 1-(2-吡啶基)哌嗪反应生成的尿素衍生物, 其吸收值与含量呈正比, 后者在紫外 254 nm 处有吸收。

1.2.2 采样 在采样现场串联两个各装 10 ml 0.2 mmol/L 1-(2-P)P 吸收液的冲击式采样管, 以 1 L/min 速度抽取 15 L 空气。

1.2.3 分析步骤 (1) HPLC 条件: Diamonsil C18(2) 柱 (150×4.6 mm, 5 μm), DAD 检测器波长 254 nm。流动相: 甲醇: 0.026 mol/L 醋酸铵 (70+30); 流速 0.6 ml/min; 进样量 10 μl 。(2) 样品处理: 将采集的样品于 60~70°C 水浴浓缩至干, 以 1.0 ml 流动相溶解, 过滤。(3) 样品分析: 吸取 10 μl 样品溶液, 在

收稿日期: 2015-08-03

基金项目: 广东省科技厅 2013 自筹科技计划项目; 2014 年度广东省医学科研基金 (A2014597); 广东省“十二五”医学重点专科、广州市医学重点学科建设项目; 广州市职业环境与健康效应实验室建设项目 (2014SY000020)

作者简介: 麦剑平 (1971—), 女, 副主任技师, 从事职业卫生检测工作。

通讯作者: 刘移民, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, E-mail: ymliu61@163.com。

以上 HPLC 条件下进样分析。用外标法进行定量。

2 结果

2.1 线性关系

当 HDI 浓度为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 相应吸收值(峰面积)分别为 476、880、1256、1650、2094, 得线性回归方程 $Y=370.4X+13.2$; 相关系数 $r=0.9997$ 。见图 1。

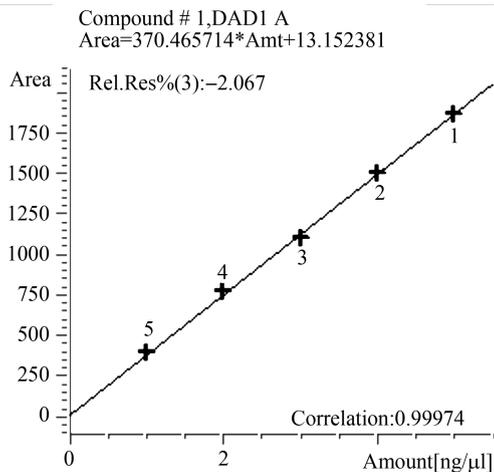


图 1 标准曲线图

2.2 回收率及精密度试验

在吸收液中分别加入 0.01、0.02、0.04 ml 浓度 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 HDI 标准转化液, 理论值分别为 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 按 1.4.3 分析步骤(2)的方法进行样品前处理, 分别落在标准曲线高、中、低的浓度范围内。每个浓度重复测定 6 次, 测其回收率和相对标准差, 其相对标准偏差范围 5.65% ~ 8.68%。见表 1。

表 1 回收率及精密度试验结果

加标样品理论值 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	加标样品测定值 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	测定均值 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g}/\text{ml}$)	回收率 (%)	RSD (%)
1.0	0.88、0.97、1.08、0.86、0.89、0.93	0.94 \pm 0.81	93.5	8.68
2.0	1.78、1.82、1.79、2.03、1.96、2.04	1.90 \pm 0.12	95.0	6.14
4.0	4.21、4.38、4.12、4.07、3.86、3.75	4.07 \pm 0.57	103.5	5.65

2.3 最低检出限

进样 10 μl , 相当于 3 倍噪音值的最低检出限为 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.4 干扰试验

经试验, 浓度为 437.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 苯、866.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 甲苯、868.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 间二甲苯、867.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 乙苯、902.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 乙酸乙酯、880.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 乙酸丁酯、909.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 苯乙烯、779.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 环己烷、791.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 丙酮、713.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 乙醚等涂料油漆共存成分对测定不产生干扰。

2.5 衍生物稳定性试验

配制一定浓度的 HDI 标准转化液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱贮存, 分别于不同时期(当日、10 日、20 日、1 个月、2 个月、3 个月)进行测定, 计算稳定性, 实验结果表明 HDI 尿素衍生物冰箱

贮存可稳定 3 个月。

3 讨论

3.1 HPLC 测试条件选择

3.1.1 色谱柱的选择 本研究选择了反相 HPLC 系统及 C18 柱, 该柱填料不受过量衍生剂的影响, 以避免过量衍生物干扰正向色谱柱填料硅胶上的硅烷醇基, 从而阻滞被检测物由柱上流出, 导致严重的拖尾和柱效降低现象的发生。选择 DAD 检测器 254 nm 波长对 HDI 衍生物进行检测可获最大响应值。

3.1.2 流动相选择 本研究对甲醇/0.026 mol/L NH_4AC (A) 和甲醇/水(B)两种流动相组成在相同配比条件下进行了筛选。结果表明, A 流动相可获得满意结果, 加有 NH_4AC 盐的流动相通过乙酰化作用可加速过量衍生剂由柱上流出, 并避免了拖尾现象。故选择了甲醇/0.026 mol/L NH_4AC (70/30) 作为流动相体系用于 HPLC 对 HDI 的分离。

3.1.3 流速选择 当流速为 1.0 ml/min 时, HDI 峰与杂质峰不能有效分开; 当流速为 0.5 ml/min 时, 峰形产生拖尾现象; 当流速为 0.6 ml/min 时, 峰形两边对称; 故本试验选择 0.6 ml/min。结果见图 2。

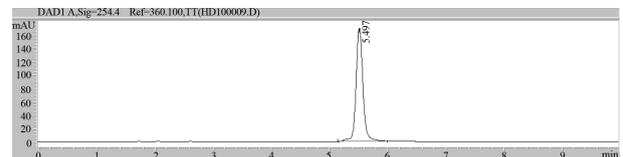


图 2 流速为 0.6 ml/min 时的 HDI 色谱图

3.2 衍生物反应条件

3.2.1 衍生剂及其用量 分别用 1-苯甲基哌嗪、1-(2-甲氧苯基)哌嗪、1-(2-P)P^[5] 三种芳香族仲胺衍生剂进行 HDI 尿素衍生物的筛选试验, 结果表明只有 1-(2-P)P 产生的尿素衍生物吸收值较另外两种衍生剂生成的衍生物高数倍, 该结果与栾杨等人的结果一致^[6]。并且其吡啶环在低波长区, 该衍生剂制备 HDI 尿素衍生物最简便, 该衍生剂可直接与 HDI 标液制备标准转化液, 省略了制结晶纯品的步骤, 加之其制备的尿素衍生物稳定性最高。参考栾杨等人的实验, 本研究选用 0.01 mol/L 1-(2-P)P 作为衍生剂。

3.2.2 衍生反应温度及时间 将一定浓度的 HDI 溶液与一定浓度的衍生液分别在室温 30 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴内反应并分别保持 10、20、30、60 min, 观察各自衍生物吸收值发现, 反应温度及时间对 HDI 衍生反应基本无影响, 室温条件下反应即可达到要求, 故选择室温条件进行衍生反应 10 min。

3.3 共存样品的干扰

由于样品处理时须将样品于 60~70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴浓缩至干, 故芳香烃、饱和脂肪族类化合物等涂料油漆共存成分对测定不产生干扰。

3.4 采样方式及采样速度的选择

由于 HDI 既能以蒸气形式存在, 也能以各种粒径和质量大小不一的气溶胶形式存在。与吴建等人用滤膜采集样品不同^[7], 本文讨论用吸收液采集样品。与栾杨等人的方法^[6]不一样, 不主张用气泡吸收管。因为采样吸收的过程也是衍生

反应的过程,速度快可使其衍生反应完全,速度太慢会降低采样效率,当采样速度达到1.0 L/min时,采样效率可达到95%以上,故建议采样速度不宜小于1.0 L/min。

3.5 本研究的意义

有毒物质的检测技术是制定和执行国家卫生标准和评价环境污染对人体健康影响的重要工具和手段。但是目前对于HDI这种应用广泛、需求多的材料,我国尚缺乏配套检测标准和成熟检测技术。所以,对HDI检测技术的研究是我国职业卫生领域急需解决的课题。本实验具有灵敏度高、检出限低、特异性强、选择性高、准确度高、精密度高、污染低、干扰低、消耗低、操作简便的特点,适合在大多数职业卫生检测机构推广使用。

参考文献:

[1] 洪峰,杜渭松,邱甬生. HDI-三聚体固化剂的合成和性能[J]. 涂料工业, 1998, 7: 6-7.

- [2] 刘益军. 聚氨酯原料及助剂手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 60-74.
- [3] Silk S J, Hardy H L. Control limits for isocyanates [J]. Ann Occup Hyg, 1983, 27: 333-339.
- [4] Cockcroft D W, Mink J T. Isocyanate-induced asthma in an automobile spray painter [J]. Can Med Assoc J, 1979, 121: 602-604.
- [5] O'Brien I M, Harries M G, Burge P S, et al. Toluene di-isocyanate-induced asthma. I. Reactions to TDI, MDI, HDI, and histamine [J]. Clin Allergy, 1979, 9: 1-6.
- [6] 栾杨,李翎,王晓云,等. 高效液相色谱测定车间空气中1,6-己撑二异氰酸酯(HDI)[J]. 中国卫生检验杂志, 1999, 9(5): 378-380.
- [7] 吴健,李小娟,周长美,等. 液相色谱法测定工作场所空气中游离六亚甲基二异氰酸酯[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(21): 3065-3069.

铅接触工人血铅浓度与血炎症细胞相关性分析

Study on the correlation between blood lead levels and circulating inflammatory cells in lead-exposed workers

范存华¹, 徐红梅¹, 沈美东¹, 刘莉莉¹, 朱宝立²

(1. 泰州市姜堰区疾病预防控制中心, 江苏 泰州 225500; 2. 江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210028)

摘要:以某蓄电池厂596名铅接触作业工人和205名管理人员为研究对象,进行职业健康体检获得炎症细胞参数,使用原子吸收光谱分析法测定血铅浓度,用SPSS软件统计分析析血铅浓度与外周血炎症细胞的相关性。结果显示,血铅接触阳性组的中性粒细胞比值高于血铅接触阴性组和无铅接触组,而淋巴细胞比值和计数均低于阴性组和无铅接触组,校正工龄、性别后,差异仍有统计学意义($P=0.01$)。提示血铅浓度升高可能会引起中性粒细胞比值升高和淋巴细胞比值降低。

关键词: 血铅; 职业暴露; 炎症细胞

中图分类号: R135.11 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2015)05-0361-02

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2015.05.017

铅对造血系统的毒性作用主要是影响卟啉代谢,抑制血红素合成酶的生成,形成铅中毒性贫血^[1]。铅对外周血白细胞、淋巴细胞及血小板等炎症细胞的影响,国内外报道不多,而且结果不统一^[2]。我们以某铅蓄电池厂596名铅作业工人和205名无铅暴露管理人员为研究对象,探讨血铅浓度与外周血炎症细胞参数的相关性。

1 对象与方法

按照《职业健康监护技术规范》(GBZ 188—2007)要求对802名工人进行职业健康检查。采集空腹静脉血,全自动

血液分析仪(日本光电MK222)测定白细胞总数、血小板总数、中性粒细胞比值和计数,淋巴细胞比值和计数以及单核细胞的比值和计数。采用石墨炉原子吸收光谱测定法测定血铅浓度。以血铅 $\geq 1.9 \mu\text{mol/L}$ 为血铅接触阳性指标^[3]。

Epidata 3.1软件双遍录入数据并核对。SPSS21.0软件进行统计分析。均数用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间均数比较用方差分析,组间两两比较用SNK法,校正性别和工龄采用协方差分析,相关性分析采用Pearson相关系数法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

血铅接触阳性组中性粒细胞比值高于铅接触阴性组和无铅接触组, $P<0.05$ 。阳性组的淋巴细胞比值和计数均低于阴性组和无铅接触组(见表1),校正工龄、性别后组间差异仍有统计学意义($P<0.05$)。血铅与中性粒细胞比值、淋巴细胞比值的Pearson相关系数分别为0.156和-0.134($P<0.05$)。

3 讨论

林晓娜等^[2]对铅作业工龄 ≤ 1 年且血铅在正常参考值范围内(0.07~1.70 $\mu\text{mol/L}$)的255名工人与205名无铅接触的管理人员进行对照分析发现,与对照组相比接触组中性粒细胞百分比明显升高。本次检测发现,在铅接触工人中,阳性组(血铅浓度 $> 1.9 \mu\text{mol/L}$)比阴性组(血铅浓度 $< 1.9 \mu\text{mol/L}$)的中性粒细胞百分比更高,此结果与Luigi等人^[4]的报道一致。他们分析了68名铅暴露工人和59名农民,发现在校正了重要的混杂因素后,铅暴露仍然会引起外周血中性粒细胞增多。体内、体外实验发现铅可直接抑制中性粒细胞趋化活性^[5,6],也可通过干扰糖皮质激素分泌间接引起中性粒细胞增多^[7]。

收稿日期: 2015-05-04; 修回日期: 2015-07-17

基金项目: 江苏省医学领军人才与创新团队(LJ201130)

作者简介: 范存华(1978—),男,主治医师,从事职业健康监护、职业危害因素检测与评价工作。

通讯作者: 朱宝立, E-mail: zhubl@jscdc.cn.