

C 52

GBZ

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 160.81 - 2004

工作场所空气有毒物质测定 生物类化合物

Methods for determination of biological compounds
in the air of workplace

2004年5月21日发布

2004年12月1日实施

中华人民共和国卫生部 发布

GBZ/T 160.81 - 2004

前 言

为贯彻执行《工业企业设计卫生标准》(GBZ 1)和《工作场所有害因素职业接触限值》(GBZ 2),特制定本标准。本标准是为工作场所有害因素职业接触限值配套的监测方法,用于监测工作场所空气中生物类化合物 [包括洗衣粉酶等]的浓度。

本标准从2004年12月1日起实施。

本标准由全国职业卫生标准委员会提出。

本标准由中华人民共和国卫生部批准。

本标准起草单位:上海医科大学公共卫生学院。

本标准主要起草人:梁友信等。

工作场所空气有毒物质测定

生物类化合物

1 范围

本标准规定了监测工作场所空气中生物类化合物浓度的方法。
本标准适用于工作场所空气中生物类化合物浓度的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款，通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GBZ 159 工作场所空气中有害物质监测的采样规范

3 含酶洗衣粉中酶的抗体结合—比色法

3.1 原理

空气含酶洗衣粉粉尘中的酶用玻璃纤维滤纸采集，洗脱后，与包被在酶标板上的特异性抗体（Ab1）结合，然后加入特异性抗体（Ab2），最后与一连有标记物的抗体（Ab3）结合，再与显色剂反应生成有色化合物，比色定量。

3.2 仪器

- 3.2.1 玻璃纤维滤纸。
- 3.2.2 采样夹，滤料直径40mm。
- 3.2.3 小型塑料采样夹，滤料直径25mm。
- 3.2.4 空气采样器，流量0~10L/min。
- 3.2.5 烧杯，50ml。
- 3.2.6 酶标板和酶标板盖。
- 3.2.7 多孔道微量加样器。
- 3.2.8 可调微量加样器。
- 3.2.9 恒温箱。
- 3.2.10 离心管，25ml。
- 3.2.11 具塞试管，10ml。
- 3.2.12 酶标仪。

3.3 试剂

实验用水为去离子水。所有试剂于冰箱保存。

3.3.1 抗体包被缓冲液，pH=9.6±0.2：称取1.51g 碳酸钠和2.93g 碳酸氢钠，溶于1000ml 水中。可保存2 个月。

3.3.2 洗板液：称取29.22g 氯化钠、1.86g Tris和1.0g 牛血清白蛋白(BSA)，溶于1000ml 水中，用盐酸溶液(6mol/L)调pH至8.0，加入0.5ml 吐温20，混匀，可保存1 周。

3.3.3 柠檬酸-磷酸缓冲液，pH=5.0±0.2：称取7.30g 柠檬酸和23.87g 磷酸氢二钠(Na₂HPO₄·12H₂O)溶于1000ml 水中，可保存1 个月。

5.4 BSA封闭液：2.0g BSA溶于100ml 洗板液中。

3.3.5 样品萃取液：称取29.22g 氯化钠、0.93g Tris、4.96g 硫代硫酸钠(Na₂S₂SO₃·5H₂O)和0.147g 氯化钙(CaCl₂·2H₂O)，溶于约800ml 水中，加入1.0g BSA，溶解后，用盐酸溶液(6mol/L)调pH至8.0，转移到1000ml 容量瓶中，定容后加入1.0ml 吐温20，混匀，可保存1 周。

3.3.6 邻苯二胺(OPD)溶液，pH=5.0：称取8.0mg OPD，置于50ml 棕色瓶中，加入15ml 柠檬酸-磷酸缓冲液，溶解后，加入5μl 过氧化氢(30%)，混匀。临用前配制。若溶液变黄，应重新配制。

- 3.3.7 兔抗体包被溶液：用10ml 抗体包被缓冲液稀释10 μ l 兔抗血清，混匀。
- 3.3.8 豚鼠抗体：用10ml 洗板液稀释10 μ l 豚鼠抗体，混匀。
- 3.3.9 标有过氧化物酶的兔抗豚鼠抗体：用10ml 洗板液稀释10 μ l 标有过氧化物酶的兔抗豚鼠抗体，混匀。
- 3.3.10 硫酸溶液，1mol/L：将55.5ml硫酸($\rho_{20} = 1.84\text{g/ml}$)慢慢加入900ml 水中，混匀。

3.4 样品的采集、运输和保存

现场采样按照GBZ 159执行。

- 3.4.1 短时间采样：在采样点，用装好玻璃纤维滤纸的采样夹，以5L/min 流量采集15min 空气样品。
- 3.4.2 长时间采样：在采样点，将装好玻璃纤维滤纸的小型塑料采样夹，以1L/min 流量采集2~8h 空气样品。
- 3.4.3 个体采样：在采样点，将装好玻璃纤维滤纸的小型塑料采样夹佩戴在采样对象的前胸上部，以1L/min 流量采集2~8h 空气样品。

采样后，将玻璃纤维滤纸的接尘面朝里对折2次，放入清洁的塑料袋或纸袋中运输和保存。

3.5 分析步骤

3.5.1 对照试验：将装好玻璃纤维滤纸的采样夹带至采样点，除不连接采样器采集空气样品外，其余操作同样品，作为样品的空白对照。

3.5.2 样品处理：将采过样的玻璃纤维滤纸放入烧杯内，加25ml 样品萃取液，至少搅拌20min 后，用滤纸过滤或离心，滤液或上清液供测定。若样品液中待测物的浓度超过测定范围，可用样品萃取液稀释后测定，计算时乘以稀释倍数。

3.5.3 标准曲线的绘制：

3.5.3.1 在8只具塞试管中，用标准酶配制成0、0.3、0.6、1.2、2.4、3.6、4.8和6.0ng/ml 标准系列。

3.5.3.2 酶标板的包被：于酶标板的每个孔中加100 μ l 兔抗体包被溶液，置4℃ 冰箱内放置过夜。（加样时不可触摸酶标板底部，不容许冰冻）。第二天，从冰箱内取出酶标板，翻转，弃去兔抗体包被溶液，在数层纸上拍打，甩尽孔中的兔抗体包被溶液。每个孔用洗板液洗涤3 次，每次约250 μ l。然后加200 μ l BSA封闭液，加样头不能接触酶标板。盖上酶标板盖，放置1h 以上。甩尽孔中液体。若不立即使用，可用酶标板膜封好，可储存2 个月。

3.5.3.3 向每个孔中加入50 μ l 标准酶溶液，全部加平行样。加入50 μ l 豚鼠抗体。将酶标板放入37℃ 恒温箱内，反应90min。取出，每个孔用洗板液洗涤3 次，每次约250 μ l。各加入100 μ l 标有过氧化物酶的兔抗豚鼠抗体，再置37℃ 恒温箱内，反应90min。取出，每个孔用洗板液洗涤3 次，每次约250 μ l。用柠檬酸-磷酸缓冲液冲洗3 次。以保持同一时间间隔向每个孔加入100 μ l OPD溶液；放入37℃ 恒温箱内，反应至有合适的黄色生成；向每个孔以保持同一时间间隔加入150 μ l 硫酸溶液，以终止显色反应。擦净酶标板底部，用酶标仪测定每个孔的吸光度（双波长法为492nm和620nm）。

3.5.3.4 以测得的吸光度值对相应的酶浓度（ng/ml）绘制标准曲线。

3.5.4 样品测定：用测定标准系列的操作条件测定样品溶液，由标准曲线得样品中酶浓度(ng/ml)。

3.6 计算

3.6.1 按式（1）将采样体积换算成标准采样体积：

$$V_0 = V \times \frac{293}{273 + t} \times \frac{P}{101.3} \dots\dots (1)$$

式中：V₀ - 标准采样体积，L；

V - 采样体积，L；

t - 采样点的温度，℃；

P - 采样点的大气压，kPa。

3.6.2 按式（2）计算空气中酶的浓度：

$$C = \frac{25c}{V_0} \dots\dots (2)$$

式中：C - 空气中酶的浓度， $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ；

- c - 测得样品中酶的浓度, ng/ml;
- 25 - 洗脱液的体积, ml;
- V₀ - 标准采样体积, L。

3.6.3 时间加权平均容许浓度按GBZ 159规定计算。

3.7 说明

3.7.1 本法的检出限为0.05ng/ml, 最低检出浓度为0.017 μg/m³ (以采集75L空气样品计)。测定范围为0.05 ~ 6ng/ml; 相对标准偏差为2% ~ 8%。

3.7.2 本法的采样效率为95%以上。洗脱回收率为90%以上。

3.7.3 空气中共存物不干扰测定。