

# 生物样品中主要有毒物质或其代谢物测定方法规范研究

中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所 线引林

## 一、前言

在职业病防治工作中,生物监测近年来得到很大的重视。工人接触化学毒物的程度,除了测定环境空气中毒物的浓度(外接触剂量)外,测定毒物进入机体后,体液中毒物及代谢物的浓度有着重要意义。人体生物材料中毒物或代谢物的浓度(内接触剂量)可以补充外接触剂量的不足,它可以反映个体的差异,并且可以对毒物的代谢、吸收、蓄积和排泄做出直接的评价,为研究生产环境与健康的影响所必不可少的手段。

进行生物监测工作首要解决的问题就是建立正确的生物材料分析方法。关于生物材料中毒物或代谢物的测定,虽然国内有丰富经验,但由于工作分散,操作步骤不规范,许多方法并没有经过严格的考察,存在许多的争论(如尿铅测定时的冷消化热消化问题,尿汞测定时的酸性还原或碱性还原问题等等)。长期以来,需要制定一套全国统一的测定方法的呼声很高。为解决这一问题,“七五”国家医学重点攻关计划中设立了“生物样品中主要有毒物质或其代谢物测定方法规范研究”的专题,经过4年半时间的努力,研制了一套科学、可靠、满足劳动卫生要求、适合我国国情的生物监测方法。

## 二、本项专题主要研究内容

“生物样品中主要有毒物质或其代谢物的测定方法规范”内容包括28种常见毒物的56个方法。它们是:尿铅(4个);血铅(2个);尿 $\delta$ -ALA;红细胞原卟啉;尿汞(3个);尿砷(2个);尿氟;尿镉(3个);血镉;尿铬(2个);血铬;尿镍(2个);血镍;尿钒(2个);尿铍;碳氧血红蛋白;尿硫氰酸盐;呼气CS<sub>2</sub>;尿TTCA;尿硒;呼气苯;尿酚(3个);尿马尿酸及甲基马尿酸(3个);尿苯乙醛酸及苯乙醇酸;尿对氨基酚(2个);尿对硝基酚(2个);尿巯基双乙酸,尿三氯乙酸,尿五氯酚(2个);尿TNT代谢物;尿甲醇;杀虫眯及代谢物(2个);血胆碱酯酶活性(2个);呋喃丹及代谢物;涕灭威;共28种毒物(无机毒物13种,有机毒物15种)的37个监测指标,56个测定方法。

以上所选的毒物种类是生产或使用面比较广泛,接触人数比较多,而且对工人健康出现损害的毒物。各种毒物的生物监测指标选的是能明确反映机体对毒物接触程度的指标。多数监测指标研制了普及型(比色法)及仪器分析型(原子吸收法,气相色谱法及液相色谱法,极谱法及电位溶出法等)两个档次的分析方法。测定方法的检测限达到卫生学要求(能测定职业接触者及非接触者的浓度范围)。样品一般能保存两周。准确度及重复性达到分析化学的要求。每个方法都经过另一单位加以验证并在现场经过实际应用。

这套生物材料分析方法的研制是由9个卫生检验方面技术力量较强的单位合作完成的(名单略)。初稿完成后,经过四次有20~40个单位参加的大规模认真讨论和修改。最后内容明确规定了取样、运输、保存,选定分析路线,优选分析条件及衡量测定方法灵敏度、选择性、可靠性、实用性各项指标的具体做法和要求。还规定每个方法的建立必须由另一单位来验证以及现场的应用,并规定了验证实验的内容和做法。包括:

(1) 必须收集测定方法的国内外标准方法和国内发表的文献,写出文献综述,对测定方法的各个环节进行分析比较及初步实验,写出实验设计书,对选定的技术路线要进行论证。

(2) 测定方法的灵敏度要满足卫生学的要求,能分析0.2~2倍生物阈限值的浓度。最好能测出非接触者的浓度。

(3) 对测定方法的各个环节要进行最佳条件的选择,所用仪器及试剂要立足于国内的实际情况。

(4) 明确规定测定方法的准确度,如果用全程回收率衡量时,要求大于75%,低于75%时要设法提高回收率。不得用乘校正系数的办法解决。要用接触者样品加标来做,并严格规定了高、中、低三种浓度及加标的量。

(5) 样品的稳定性一般要达到两周,以便于运输和分析。

(6) 验证实验必须由另一个单位的人员、仪

器、试剂来做。

(7) 必须到生产或使用现场实际应用,以考察其适用性。

此研制准则保证了本专题研制的56个测定方法的质量。在研制上述56种生物监测方法的过程中,为了及时推广研究成果,公开征求意见,我们在《工业卫生与职业病》杂志开辟了“生物监测方法”专栏。自1988年开始,每期刊登2~3篇论文,到现在已刊出13期32篇论文,计划于1991年底将本专题研究论文全部发表完毕。并分三批通过了中国预防医学科学院主持的专家鉴定,结论认为这套方法准确可靠,不仅为职业病中毒检验提供了方法,而且为国家制定标准提供了依据,从而使测定结果具有可比性。可以为职业病诊断工作和做好劳动卫生工作提供规范化的统一方法。鉴定委员会认为这套方法中有52个及“生物样品中有毒物质或代谢物测定方法研制准则”可以上报全国卫生标准技术委员会评审作为国家标准方法。

### 三、水平及效益

1. 《生物样品中主要有毒物质或其代谢物测定方法》:美国和西德各有一套经过研究验证并为官方承认的统一使用的生物样品分析方法。美国国家职业安全与卫生研究所(NIOSH)已发表了32种毒物的15个方法。西德生产场所化学物质对健康危害研究委员会发表了63种毒物的29个方法。我国迄今尚无全国统一使用的标准方法。

本专题合同选择了28种常见毒物的能明确反映机体对毒物的接触程度或能明确反映机体中毒程度的37个监测指标。根据被测物的化学性质和毒性,有的监测指标又选择了不同水平的56个分析方法(比色法及仪器分析方法)。无论从毒物品种、指标、配套性及仪器分析的水平来讲,都相当于美、德两国现有的水平,首次为我国提供了一套科学、可靠、满足劳动卫生要求、适合我国国情的生物监测方法。这套生物样品测定方法从毒物品种来讲与美国政府工业卫生家协会(ACGIH)制定的生物接触指标(BEI, 16种)及西德政府颁布的生物耐受限值(BAT, 20种)中毒物品种相比,其覆盖面各为81%及75%。主要是美德两国的生物限值和无机物品种较少,有机溶剂研究得较多。

2. 《研制准则》:国内外迄今为止没有发表研制生物材料测定方法的指导性文件和标准资料。本《研制准则》内容包括取样、运输、保存,选定分析路线,优选分析条件及衡量测定方法的灵敏度、选择性、可靠性、实用性各项指标的具体做法和要求。

### 四、推广应用前景:

1. 《生物样品中有毒物质或代谢物测定方法》这一套56个测定方法中已有30个方法列入1990~1991年度全国卫生标准技术委员会卫生基础标准的工作计划。第一批17个方法已写出初稿,即将送审。其余22个方法争取选入1992年度计划。

2. 《研制准则》已列入1990~1991年度全国卫生标准技术委员会工作计划。

3. 已与人民卫生出版社约稿,编写一本《生物材料中有毒物质及代谢物测定方法手册》,计划写30万字。内容除操作规程外,还包括毒性、生物监测指标、常用方法比较、选用方法的原理、注意事项、适用范围等,以手册的性质供广大检验人员实际工作中参考。

4. 已有4个省计划开办技术培训班,结合质量控制,大面积推广此项研究成果,以促进生物监测及职业病诊断工作质量的提高。

### 五、冻干人尿(痕量金属)标准物质的研制\*

为满足国内尿样分析需要,填补空白并节约外汇,研制了冻干人尿(痕量金属)标准物质。它是我国首批研制出来的临床化学与医药的标准物质之一,是在参考了国外同类标准物质的制备过程,并根据我国具体的技术条件而确立的工艺制备的。痕量金属含量分两个浓度:(1)低浓度由正常人尿制备而成;(2)高浓度为正常人尿加入10种元素(As, Be, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Se和Zn),使之浓度约相当于生物限值制备而成。4℃以下冰箱保存,有效期一年。使用时加25.0ml纯水溶解,即可复原成一般尿样,其基体与新鲜尿样基本相同。

本标准物质可用于常规分析的质量控制,新方法的验证和校准分析仪器的基准物质,也可作为分析测试中的量值传递和仲裁分析结果的标准参考物质,为职业病、地方病和公害病的接触指标、诊断指标及参考指标的质量控制提供可靠依据,为推动生物监测的发展,制定我国的生物限值及测定方法的规范化和标准化提供统一的实物标准。它的均匀性和稳定性经过测定和检验认为符合国家一级标准物质的要求。它的标准值或参考值是由14个国内高水平实验室用9种不同原理的方法确定的,定值结果见下表。

定值结果得到NIOSH用ICP-MS法验证。本标准物质已经国家技术监督局批准为国家一级标准物质,编号为GBW 09102和GBW09103,并发给制造计量器具许可证(专利证书)。全国各地已有43个单位购买和使用本标准物质,均反映性能良好。

冻干人尿（痕量金属）标准物质定值结果

元素	低浓度(μg/l)	高浓度(mg/l)	分析方法
As	20.1±6.0	0.36±0.004	b,e,d,f
Be	(<0.4)	0.031±0.002	a,d,c
Cd	(<0.3)	0.053±0.003	a,c,d
Cr	(12)	0.091±0.016	a,d,e
Cu	33.6±10.6	0.45±0.04	a,d,c, e, j
Mn	(3.6)	0.29±0.03	a,d,c
Ni	(7.5)	0.31±0.03	a,c,d
Pb	(5.0)	0.112±0.009	a,d,g
Se	33.7±7.0	0.44±0.06	b,e,h,i
Zn	570±50	2.22±0.10	b,c,d,e,j

注：±号前面的数值为标准值，后面的数值为不确定度；（ ）内为参考值。

a. ETAAS, 电热原子吸收光谱法； b. AAS等, 火焰、氢化物原子吸收光谱法； c. ICP-AES, 电感耦合等离子体发射光谱法； d. ICP-MS, 电感耦合等离子体—质谱法； e. INAA, 仪器中子活化分析法； f. ASV, 阴极溶出伏安法； g. DPSA, 微分电位溶出法； h. GC, 气相色谱法； i. FS, 荧光光谱法； j. AFS, 原子荧光光谱法。

\* 起草人为北京医科大学阮永道等。

## The Sandarization Study on Methods of Determination for Toxic Substances and Metabolites in Biological Materials

Xian Yinlin, et al

I. Great attention has been paid to biological monitoring in occupational health work in recent years. It is essential to establish proper analytical method of biological materials for conducting biological monitoring work.

A set of methods of biological monitoring which was accurate, reliable, fulfilled the demands of industrial hygiene, fitted with the condition of our country were used. It included, urine lead (4 methods); blood lead (2); urine δ-ALA; red cell FEP; urine mercury (3); urine arsenic (2); urine fluoride; urine cadmium (3); blood cadmium; urine chromium (2); blood chromium; urine nickel (2); blood nickel; urine vanadium(2);urine beryllium, carboxyhemoglobin, urine thiocyanate, expired air carbon disulfide;urine TTCA; urine selenium, expired air benzene; urine phenol (3); urine hippuric acid and methyl hippuric acid (3); urine phenylglyoxylic acid and phenylglyoxalic acid, urine p-amino

-phenol (2); urine p-nitrophenol (2); urine TDGA; urine trichloroacetic acid; urine pentachlorophenol (2); urine TNT metabolites; urine methanol; urine p-chloro-o-toluidine(2); blood choline esterase activity (2); furandan and metabolites. ---56 methods for 37 monitoring indices of 28 toxic substances. From the very begining of this program, a "Investigation criteria" was established and further revised 4 times after full discussions. The contents of the criteria included,

(1) The technical approaches must be selected in comparison with standard methods or published methods.

(2) The sensitivity must meet the requirements of hygiene, it can analyze the concentrations in 0.2~2 times of BEI. Can determine the concentration of non exposed person preferred.

(3) Optimization of each step of analysis required. Instruments and reagents must fit to

the practical condition.

(4) The way and target for accuracy provided.

(5) The stability of sample was generally 2 weeks.

(6) The methods must be examined by other lab. and must be used in field.

This criteria guaranteed the quality of this set of biological monitoring methods.

The set of biological monitoring methods will be recommended as the National Standard Methods. Also it will be compiled as a handbook and will be published at the end of 1991.

II. Studies on the production of lyophilized human urine (Trace Metals) certified reference material

The preparation of the lyophilized human

urine certified reference material (CRM) was established on the basis of literatures in other countries and domestic conditions. The homogeneity and stability of the CRM in accordance with the stipulations. The certified values are determined by 14 high level laboratories in China using 9 methods with different principles and have been examined by NIOSH using ICP-MS. This CRM has been approved as first grade national reference material, which has serial numbers of GBW 09102 and GBW 09103. It can be used in quality control of routine analysis, test of new methods, and used as standard material for calibration of analytical instruments and certified reference material for quantity transmission and analysis arbitration.

## 某矽石砖厂尘肺发病调查

钟正生<sup>1</sup> 王胜利<sup>2</sup> 刘文栓<sup>3</sup>

有关矽石砖尘肺报道甚少。我们对江西萍乡某矽石砖厂粉尘作业的接尘工人进行了观察与分析。用回顾性队列研究方法,截止1988年底,全部接尘一年以上的工人列为调查对象。对有其他粉尘接触史的工人一律删除。共观察 264人年。

生产工序流程:矽石初破碎→烘矽→球磨→制砖→隧道窑→出砖。矽石砖作业粉尘,最高浓度717.6mg/m<sup>3</sup>,最低7mg/m<sup>3</sup>。各工序粉尘浓度:球磨车间 $\bar{X}$ 239.88mg/m<sup>3</sup>,烘矽车间 $\bar{X}$ 85.11mg/m<sup>3</sup>,制砖车间 $\bar{X}$ 10.72mg/m<sup>3</sup>,破碎机房7.76mg/m<sup>3</sup>。原料主要是页岩, SiO<sub>2</sub>含量平均为36.26%,其次为砂岩, SiO<sub>2</sub>含量平均为84.66%。

矽石砖接尘人员X线胸片检出0+71 (26.89%), I期13例、I+2例,共 15例 (5.68%)。按工种分打粉工检出矽石砖尘肺 13 例,制砖工、破碎工各检出 1 例。

对照不同车间工种的接尘工人,矽石砖尘肺患病情况,用 $\chi^2$ 检验, $\chi^2 = 14.22$ ,得 $P < 0.005$ ,工种别患病率有非常显著性意义。

矽石砖尘肺发病工龄最短2年,最长15年,平均9.19年。根据不同接尘工龄与患病的情况, $\chi^2 = 23.20$ , $P < 0.005$ ,故不同接尘工龄与患病有非常显著性意义。

观察期间死亡 2 例。1 例死于肺癌,另 1 例死于心肺功能衰竭。

矽石砖粉尘可引起尘肺,而且发病与粉尘浓度成正相关。发病工龄经OR比值比分析在≤10年之间。矽石砖尘肺且比煤工尘肺发病工龄短、患病率高。同时也不低于冶金矿山矽肺患病率。其X线胸片改变类似煤矿纯掘进工的肺野改变。

由于矽石砖所采用的原料是煤矿井下掘进运出的矽石,因而矽石砖尘肺实质上就是矽肺。

利用矿井矽石打粉制砖,不能忽视“二次污染”。防护的重点在于控制尘源的产生,或在尘源产生粉尘的瞬间,采取有效的措施,较理想的防尘办法是将初破碎→烘矽→球磨,改为全密封式水雾降尘,将干式打粉改为水磨浆,这样可以防止尘源的产生和飞扬。既保护了生产工人的身体健康,又消除了对环境的污染。生产工人必须佩带防尘口罩。

通过对264名矽石砖作业粉尘的接尘工人的调查,矽石砖尘肺发病高,进展快,预后差。因此,必须对矽石砖作业粉尘车间做好劳动卫生监督 and 监测,搞好综合防尘。对接尘的矽石制砖工人,定期做好健康监护。已确诊的矽石砖尘肺患者必须搞好“三级管理”。

1.江西萍乡矿务局职业病防治所 2.河北省唐山市泥矾碱厂医院 3.河南省平顶山矿务局八矿医院