

• 监测与检验 •

工作场所空气中乙酸的毛细管气相色谱测定方法

Determination of acetic acid in air of working place with capillary gas chromatography

崔强

CUI Qiang

(北京市疾病预防控制中心职业卫生所, 北京 100020)

摘要: 研究工作场所空气中乙酸的毛细管气相色谱测定方法。配制乙酸标准溶液, 利用气相色谱仪进行分析, 制作标准曲线, 比较不同毛细管色谱柱的分析效果, 比较现行乙酸分析的标准方法与我们实验所用毛细管色谱柱方法的检测限。结果显示, 毛细管色谱柱能使欲测物乙酸与解吸液甲酸分离完全, 检测灵敏度更高。

关键词: 乙酸; 工作场所; 毛细管气相色谱

中图分类号: R134.4

文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2011)05-0382-03

在职业卫生监督检测中经常有工作场所空气中乙酸浓度的测定。国家职业卫生标准《工作场所空气有毒物质测定羧酸类化合物》规定乙酸的实验室分析方法采用氢焰离子化气相色谱法。由于乙酸的分子中碳氢原子数量较少, 只含有两个碳原子和四个氢原子, 因此, 与经常测定的乙酸酯类相比, 检出限值比较大。然而, 关键之处在于乙酸属于极性有机酸性物质, 溶剂解吸法测定时, 使用甲酸作为解吸液。两种酸都有一定的酸强度, 乙酸既要能出峰, 并在尽量低的检出限下被检出, 也要在色谱柱中能够与甲酸很好的分离。这常常是困扰分析工作者的难题。因此, 选择一种分析乙酸的色谱柱, 并确定其色谱条件, 是分析检测工作很重要的环节。现将我们经过实验后选用的乙酸溶剂解吸毛细管气相色谱测定方法介绍如下。

1 实验部分

1.1 仪器

美国 Agilent technologies 6890 型气相色谱仪附带 FID 检测器。安捷伦自动进样系统。5 μ l、100 μ l 微量注射器。

1.2 解吸液

甲酸, Sigma-aldrich 公司出品, 98% ~ 100% 纯度。乙酸, 色谱纯, 华北地区特种化学试剂开发中心。

1.3 标准溶液的配制

传统的方法是使用 10 ml 容量瓶, 加入若干毫升甲酸, 准确称量后, 加入 2 滴乙酸, 再准确称量, 加甲酸至刻度。计算储备液浓度, 临用时稀释, 配制标准曲线浓度。

本实验采用两种方法配制乙酸储备液。第一种方法用于配制低浓度的标准曲线储备液。用一支 10 ml 试管, 用刻度吸

量管在试管中加入 2.0 ml 甲酸, 用 5 μ l 微量注射器加入 2.0 μ l 乙酸, 浓度为 1.0492 μ g/ μ l。第二种方法用于配制高浓度的标准曲线储备液。用一支 10 ml 试管, 用刻度吸量管在试管中加入 4.0 ml 甲酸, 在电子天平上称量, 加入 1 滴乙酸, 再称量, 乙酸重量为 0.0142 g, 浓度为 3.55 μ g/ μ l。

配制标准曲线应用系列时, 在安捷伦自动进样用的 1.5 ml 溶剂解吸瓶中, 用 1 000 μ l 移液器分别加入 1.0 ml 甲酸。用 100 μ l 微量注射器, 加入 5、10、20、40、80、160 μ l 乙酸标准储备液。标准曲线系列的配制浓度以及相应的色谱出峰面积见表 1、表 2。

表 1 低浓度标准曲线系列以及相应的色谱出峰面积

储备液体积 (μ l)	甲酸体积 (ml)	总体积 (ml)	标准系列浓度 (μ g/ml)	出峰面积 (pA* Sec)
0	1.0	1.0	0	0
5.0	1.0	1.005	5.2	5.7
10.0	1.0	1.010	10.4	11.9
20.0	1.0	1.020	20.6	24.1
40.0	1.0	1.040	40.4	49.7
80.0	1.0	1.080	77.7	99.4
160.0	1.0	1.160	144.7	187.4

注: $Y = 1.30X - 1.58$, $R = 0.9999$

表 2 高浓度标准曲线系列以及相应的色谱出峰面积

储备液体积 (μ l)	甲酸体积 (ml)	总体积 (ml)	标准系列浓度 (μ g/ml)	出峰面积 (pA* Sec)
0	1.0	1.0	0	0
5.0	1.0	1.005	17.7	19.0
10.0	1.0	1.010	35.1	40.1
20.0	1.0	1.020	69.6	91.6
40.0	1.0	1.040	136.5	192.7
80.0	1.0	1.080	263.0	374.8
160.0	1.0	1.160	490.0	715.1

注: $Y = 1.47X - 7.6$, $R = 0.9999$

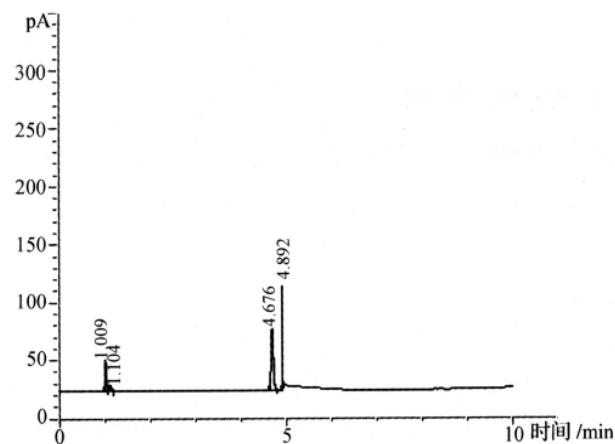
1.4 两种色谱柱分离结果的比较

用 2 支色谱柱, 在相同浓度下进行分析, 明显可见峰形和出峰面积有很大不同。

第一支色谱柱为美国 Supelco 公司的 Nukol 毛细管柱作为分析柱 (见图 1)。

收稿日期: 2011-06-13; 修回日期: 2011-08-01

作者简介: 崔强 (1959—), 男, 副研究员, 主要从事职业卫生化学检测方法的研究工作。

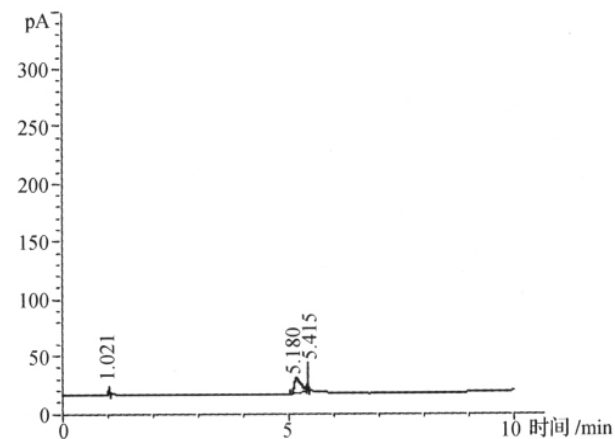


$t_R = 4.676 \text{ min}$, 峰面积 $186 \text{ pA} \cdot \text{Sec}$

图1 色谱图1

30 m × 0.53 mm × 0.50 μm, 色谱分析条件: 色谱柱, 初始温度 100℃, 初始温度时间 5.0 min, 阶升速率 10℃/min, 最终温度 150℃; 进样口, 分流模式, 温度 300℃, 压力 10.00 psi, 分流比 2:1, 分流流量 27.2 ml/min; 检测器, 温度 300℃; 氢气流量 40.0 ml/min; 空气流量 450.0 ml/min。

第二支色谱柱为 HP-FFAP 19095F-120 毛细管柱作为分析柱 (见图 2)。



$t_R = 5.160 \text{ min}$, 峰面积 $62 \text{ pA} \cdot \text{Sec}$

图2 色谱图2

15 m × 0.53 mm × 1.00 μm, 色谱分析条件: 色谱柱, 初始温度 100℃, 初始温度时间 5.0 min, 阶升速率 10℃/min, 最终温度 150℃; 进样口, 分流模式, 温度 300℃, 压力 10.00 psi, 分流比 2:1, 分流流量 54.1 ml/min; 检测器, 温度 300℃; 氢气流量 40.0 ml/min; 空气流量 450.0 ml/min。

通过实验, 我们看到 Nukol 柱的甲酸溶剂峰与乙酸分离效果很理想, 且优于 FFAP 柱。

1.5 计算

按式 (1) 计算空气中乙酸的浓度

$$C = \frac{m}{V_0} \dots\dots\dots (1)$$

式中: C ——空气中乙酸的浓度, mg/m^3 ; m ——测得样品中乙酸的含量, μg ; V_0 ——标准采样体积, L。

2 结果与讨论

乙酸是小分子的有机酸性物质, 属低毒类, 对眼和呼吸道有强烈的刺激作用。相对密度 1.049, 沸点 118.1℃, 饱和蒸汽压 1.52 kPa (20℃), 时间加权平均容许浓度 (PC-TWA) 为 10 mg/m^3 , 短时间接触容许浓度 (PC-STEL) 为 20 mg/m^3 。

我国职业卫生标准中乙酸的测定用硅胶管采集, 甲酸溶剂解吸, 气相色谱法分析。填充柱 1.5 m × 3 mm, FFAP: H_3PO_4 : Chromosorb WAW-DMCS = 3: 0.5: 100。标准方法完成于上世纪 90 年代初期。

随着分析仪器的的发展, 毛细管色谱柱由于其优良的性能得到广泛普及, 其职业卫生标准中相应填充柱的方法已很难在实际工作中应用。乙酸测定的职业现场远不及有机烃类, 不必要有一个专用的色谱仪, 只要选用一个较好的色谱柱即可。根据研制检测方法的基本要求, 尽可能使用先进的仪器和设备^[1]。通过实验确定, Supelco Nukol 柱作为分析柱可以很好的分离甲酸溶剂峰和欲测的乙酸峰, 保留时间也比较适宜。而我们此次实验中作为对比使用的 HP-FFAP 柱是 15 m 柱, 膜较厚, 也会影响分析效果。色谱图 1 和色谱图 2 均是在同一乙酸浓度下的出峰, 检测灵敏度差异较大, Nukol 柱比较灵敏。

甲酸沸点 100.7℃, 与乙酸的 118.1℃ 相差不大。甲酸作为解吸剂除了其酸性比乙酸还要强以外, 甲酸峰和乙酸峰不易分离, 从色谱图中可以看出, 乙酸出峰比甲酸稍快, 甲酸峰拖尾。特别是往往甲酸不纯, 会出现色谱杂峰, 因此, 甲酸的纯度非常重要。本方法采用程序升温的目的, 就是为达到较好的分离度和将甲酸中的杂质赶出色谱柱, 避免留存在色谱柱中影响下一个样品的出峰。

Nukol 毛细管柱属于极性柱, 相当于常用的 DB-FFAP 和 HP-FFAP 柱。由于其固定相上加入了酸性官能团导致此柱呈酸性。这一特点有利于挥发性酸性化合物的分离。因此, 甲酸和乙酸在此柱上可以达到较好的分离效果。0.53 mm 的内径具有近似填充柱的负荷量, 总柱效则远远超过填充柱。达到同样的分离度时, 0.53 mm 大口径柱的分析时间显著快于填充柱。适合于分析这种简单的乙酸现场样品, 是 FFAP 填充柱理想的替代柱。

按 300 ml/min 流量采集 15 min 空气样品, 采样体积是 4.5 L。2004 年修订的国家标准中表明的方法性能指标乙酸最低检出限 35 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 最低检出浓度 8 mg/m^3 。本实验中, 以色谱进样 1 μl , 最小出峰面积 5 $\text{pA} \cdot \text{sec}$ 计, 用标准曲线最低一点浓度计算, 本方法的最低检出限为 4.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 最低检出浓度 1.0 mg/m^3 , 远远低于国家规定的 20 mg/m^3 的短时间接触浓度, 也优于国家标准方法的性能指标。

(下转第 387 页)

为了排除吸烟的影响,按照吸烟情况,将接触组 177 名人员(排除吸烟情况不详的 2 名观察对象)和对照组 153 名人员分为不吸烟者、吸烟者。血清 MDA 含量和 SOD 活力在不吸烟者和吸烟者中,均为接触组高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$); GSH-Px 活力在不吸烟者及吸烟者中,均为接触组低于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 不同吸烟情况下接触组和对照组结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

测定指标	组别	不吸烟 ($n_1 = 79, n_2 = 105$)	吸烟 ($n_1 = 74, n_2 = 72$)
MDA	对照组	4.59 ± 1.22	4.66 ± 1.45
	接触组	5.48 ± 1.35*	5.67 ± 1.42*
SOD	对照组	65.24 ± 28.16	56.99 ± 24.77
	接触组	77.53 ± 23.74*	81.83 ± 24.43*
GSH-Px	对照组	198.48 ± 45.24	200.01 ± 42.87
	接触组	189.11 ± 37.18	193.31 ± 33.59

注: n_1 对照组人数, n_2 接触组人数; 与对照组比较, * $P < 0.01$ 。

3 讨论

近年来,从自由基的角度研究化学物的毒性作用已日益引起重视,脂质过氧化是细胞损伤的一种特殊形式,也是许多工业毒物致病的起点^[1,2]。目前认为自由基造成氧化损伤是光气急性中毒致肺水肿的重要原因之一^[3,4]。本文通过对长期低浓度光气接触人群氧化损伤指标的测定发现,接触组血清 MDA 含量明显增高,经年龄和吸烟状况分层分析后,接触组血清 MDA 含量与对照组相比差异均有统计学意义,表明低浓度的光气接触可对人体产生一定的氧化损伤。

接触组的血清 SOD 活力明显高于对照组,表明在低浓度光气接触后,可使作业工人的 SOD 活力增强,这可能是因机体脂质过氧化增强及体内自由基产生增多而引起的拮抗氧化损伤的一种代偿性反应,一旦这种代偿性反应不足以抵抗体

内产生的自由基,机体将遭受严重的氧化损伤。在经年龄分层后,发现 40 岁以下人群中接触组的 SOD 活力明显高于对照组,而 40 岁以上人群中,接触组的 SOD 活力则无明显增高,可能是 SOD 的代偿性反应与年龄有关。

本研究还发现 30 岁以下人群中血清的 GSH-Px 活力明显降低,可能与低浓度的光气接触能抑制酶活性有关。但在 30 岁以上人群中,这种抑制作用不明显,可能是年龄与低水平的光气接触共同影响,机体产生了一定的耐受性有关。

将接触组按照装置分组,血清 MDA 含量、SOD 活力及 GSH-Px 活力在不同装置间无统计学差异,表明在职业接触限值以内的低浓度光气接触,当空气中光气浓度相差较小时,浓度对人体氧化损伤的影响无明显不同。

李文丽等^[5]的研究发现光气染毒致肺水肿的小鼠肺脏氧化损伤试验中,MDA 含量及 SOD 活性明显增高,本实验的研究对象为较长期低浓度光气接触的作业人员,结果与李文丽等的研究一致,表明较长期的低浓度光气接触可引起机体的氧化应激损伤。

(致谢: 上海金山医院中心实验室主任范卫副研究员给予的大力支持!)

参考文献:

- [1] 付凯勤. 自由基与职业中毒 [J]. 劳动医学, 1987, 4 (3): 48.
- [2] Lee K U. Oxidative stress markers in Korean subjects with insulin resistance syndrome [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2001, 54 (Suppl 2): S29-33.
- [3] 秦绪军,海春旭,梁欣,等. 大鼠急性光气吸入对机体氧化损伤的研究 [J]. 毒理学杂志, 2005, 19 (4): 260-262.
- [4] 席庆祥,海春旭,王鹏,等. 光气染毒小鼠急性肺损伤的浓时积与效应关系研究 [J]. 疾病控制杂志, 2007, 11 (2): 160-163.
- [5] 李文丽,海春旭,刘瑞,等. 光气染毒造成小鼠肺脏的氧化损伤 [J]. 疾病控制杂志, 2004, 8 (6): 554-556.

(上接第 383 页)

在表 2 中可以看到,配制的标准曲线系列最高一点的浓度是 490.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$,按 4.5 L 的采样体积计,相当于 109 mg/m^3 。以往检测时,浓度超过国家规定的 20 mg/m^3 短接触浓度的样品几乎没有,可能是乙酸对人体的刺激作用太强,在国家规定的标准浓度下人体不易耐受。所以,现场浓度一般都较低。

本实验采用两种方法配制了 2 种浓度的标准曲线,目的是比较第一种用微量注射器配储备液的准确性与第二种经典的配制方法有无差别。可以看出,两条线性回归方程的 b 值分别为 1.30 和 1.47,基本相同。线性相关系数 $R = 0.9999$ 。经过多次实验,用微量注射器配储备液的方法与用天平称量的配制方法没有差别,用微量注射器配储备液方法在常规的日

常检测中简便、快捷,甲酸溶剂用量少,准确性较高。

Nukol 色谱柱也用于分析测定丙烯酸、苯胺、苯酚及醇类的现场浓度。例如,乙二醇的测定时用 2% 异丙醇水溶液作为解吸剂,在一个极性弱的毛细管色谱柱上异丙醇和乙二醇很难分开,而用 Nukol 柱,则分离很好。所以,即使在应用先进的气相色谱仪的今天,首先考虑的问题仍然是适宜色谱柱的选用,其次才是载气流量和柱温的调配。

经过近两年的应用,我们认为 Nukol 毛细管色谱柱是一支优良的乙酸分析柱。

参考文献:

- [1] 徐伯洪,闫惠芳. 工作场所有害物质检测方法 [M]. 北京: 中国人民公安大学出版社, 2003: 398.