

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 210.5—2008



职业卫生标准制定指南 第5部分：生物材料中化学物质 测定方法

Guide for establishing occupational health standards—
Part 5: Determination methods of chemicals in
biological materials

2008-07-08 发布

2008-12-30 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

根据《中华人民共和国职业病防治法》制定本部分。

GBZ/T 210《职业卫生标准制定指南》分为五个部分：

- 第1部分：工作场所化学物质职业接触限值；
- 第2部分：工作场所粉尘职业接触限值；
- 第3部分：工作场所物理因素职业接触限值；
- 第4部分：工作场所空气中化学物质测定方法；
- 第5部分：生物材料中化学物质测定方法。

本部分为 GBZ/T 210 的第 5 部分，是在 WS/T 68—1996《研制生物样品监测检验方法指南》基础上修订而成的。自本部分实施之日起，WS/T 68—1996 同时废止。

本部分与 WS/T 68—1996 相比主要修改如下：

- 明确了适用范围；
- 增加了制定原则；
- 增加了制定依据；
- 修改了研制标准测定方法需要具备的基本要求；
- 增加了使用新分析仪器研制标准测定方法的要求和方法；
- 增加了资料整理和分析的详细要求；
- 增加了标准测定方法的提出要求；
- 增加了对编制说明的要求；
- 增加了警示要求。

本部分由卫生部职业卫生标准专业委员会提出。

本部分由中华人民共和国卫生部批准。

本部分主要起草单位：中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所、天津市疾病预防控制中心、首都儿科研究所、深圳市疾病预防控制中心、山东省疾病预防控制中心。

本部分主要起草人：徐伯洪、李涛、张敏、闫慧芳、刘黛莉、庄志雄、宫月秋、黄雪祥、张霞、杜燮祯、邱兵。

职业卫生标准制定指南

第5部分：生物材料中化学物质测定方法

1 范围

本部分规定了职业接触者生物材料中检测指标(化学物质及其代谢物和生物效应)的标准测定方法的制定原则、依据、研制方法及要求等。

本部分适用于职业接触者生物材料中检测指标标准测定方法的制定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本部分的引用而成为本部分的条款。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部分,然而,鼓励根据本部分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部分。

GB/T 8170 数值修约规则

GB/T 20001.4 标准编写规则 第4部分:化学分析方法

GBZ 2.1 工作场所有害因素职业接触限值 第1部分:化学有害因素

GBZ/T 173 职业卫生生物监测质量保证规范

WS/T 97 尿中肌酐的分光光度测定方法

WS/T 98 尿中肌酐的反相液相色谱测定方法

3 制定原则

在遵循 GB/T 20001.4 和国家职业卫生标准制定原则基础上,生物材料中检测指标测定方法的制定,还应遵循以下原则。

3.1 研制的测定方法应采用科学、先进的方法,应尽可能引进国际或国外的标准测定方法或公认的测定方法,同时也应适合我国国情,使制定的测定方法既先进又便于推广应用。

3.2 以下情况应制定测定方法:

- a) 已列入职业接触生物限值制订计划的;
- b) 毒理学实验、现有资料表明该化学物质有可能对人造成危害的;
- c) 在生产过程中应用该化学物质并有一定的职业接触人群和职业危害的;
- d) 国外已经制定职业接触生物限值的。

3.3 在方法研制的过程中,鼓励研究和采用新技术、新方法和新材料。

4 制定依据

4.1 根据化学物质的理化性质、在体内的代谢和毒代动力学特征,选择能反映接触化学物质程度的生物材料、生物监测指标和测定方法。

4.2 参考国内外的标准测定方法和文献中的方法,制定适合我国的测定方法。

4.3 根据待测物的正常参考值、职业接触生物限值及生物效应等制定测定方法。

5 研制方法

5.1 资料收集

通过文献检索,获得该化学物质的理化性质、机体内代谢产物或反应产物及其生物效应、生物监测指标、职业接触生物限值、正常参考值、测定方法(特别是生物材料的测定方法)等资料。

5.2 样品的采集、运输和保存的原则

- 5.2.1 使用安全方便的取样容器和取样工具,其材质不影响测定。
- 5.2.2 在样品的采集、运输和保存过程中,应注意冷藏密封,并尽快送达实验室,以防止样品污染,保证待测物稳定,不变质、不损失。
- 5.2.3 确定采样时机(班前、班中、班末、班后或其他时间)时,应根据待测物在体内的代谢规律,也可参考国内外标准测定方法和职业接触生物限值中规定的采样时机或相关的研究文献。
- 5.2.4 取样体积应根据测定方法的最低检出浓度、职业接触生物限值和正常参考值来确定。通常尿样 ≥ 50 mL,静脉血 ≥ 2 mL,呼出气 ≥ 100 mL。
- 5.2.5 样品的运输和保存条件以及保存时间(样品的稳定性)可通过实验或参考有关资料确定。
- 5.2.6 加入样品的防腐剂或抗凝剂等不应影响测定。

5.3 样品预处理的原则

- 5.3.1 样品预处理方法应尽量简单有效,少用试剂或繁复操作,以便减少污染。
- 5.3.2 预处理方法的选择
 - a) 测定无机物时,优先选用基体改进剂法、微波消解法或酸消解法;
 - b) 测定有机物时,先将结合态的化合物水解,然后用有机溶剂萃取分离,也可采用化学衍生法、固相萃取法或固相微萃取法,挥发性的待测物可使用顶空法。
- 5.3.3 在样品预处理过程中,应确保待测物因挥发、分解、两相分配等造成的损失为最小;测定全程的回收率应 $\geq 75\%$ 。
- 5.3.4 尿样浓度的校正

可采用下列方法之一:

 - a) 相对密度校正法:在采集后,不加任何试剂前,尽快测量尿的相对密度。尿的标准相对密度为1.020,小于1.010或大于1.030的尿样不能用于测定。
 - b) 肌酐校正法:在采集后,尽快测定尿中肌酐浓度。尿中肌酐浓度小于0.3 g/L或大于3 g/L的尿样不能用于测定。肌酐的测定方法采用WS/T 97或WS/T 98或其他公认的方法。

5.4 测定方法的选择

- 5.4.1 测定方法应满足职业接触生物限值对检测的要求。
 - a) 最低检出浓度应 ≤ 0.1 倍职业接触生物限值,最好能测定正常参考值;
 - b) 标准曲线的测定范围最好能覆盖0.1倍~3倍职业接触生物限值。
- 5.4.2 金属及其化合物优先选择原子光谱法;有机化合物优先选择气相色谱法或高效液相色谱法;非金属无机化合物优先选择原子荧光法、离子色谱法或气相色谱法等。

5.5 测定方法的最佳测定条件试验

研制新的测定方法时,首先要进行最佳测定条件的试验,主要包括以下内容。

5.5.1 分光光度法

显色剂的选择、试剂的用量、反应介质及其酸碱度、显色反应的温度和时间、颜色的稳定时间等最佳测定条件的选择,以及标准曲线和干扰消除等。

5.5.2 原子光谱法

- a) 火焰原子吸收光谱法:火焰种类、燃气和助燃气流量、燃烧头高度、试液提升量、测量波长和干扰消除等;

- b) 电热原子吸收光谱法:干燥、灰化和原子化的时间和温度、载气流量、测量波长和干扰消除等;
- c) 原子荧光光谱法:氢化物发生条件、原子化条件、测量波长和干扰消除等;
- d) 原子发射光谱法:样品雾化条件、原子化条件、测量波长和干扰消除等。

5.5.3 色谱法

- a) 气相色谱法:色谱柱、柱温、气化室及检测室的温度、载气流量、检测器及操作条件的选择等;
- b) 液相(离子)色谱法:色谱柱、柱温、流动相及其流量、检测器及操作条件的选择等。

5.5.4 其他方法

根据测定方法的操作特点和要求,进行试验。

5.6 测定方法性能指标的试验

5.6.1 标准曲线(或工作曲线)

5.6.1.1 标准曲线(或工作曲线)的选择

- a) 在样品基体不干扰测定的情况下,采用标准曲线法,即用标准溶液直接配制标准系列,进行测定;
- b) 在样品基体对测定有干扰的情况下,采用工作曲线法或标准加入法。

工作曲线法是在标准系列中加入样品基体后直接测定,或加入样品基体并同样品处理后测定。

标准加入法是将样品分成等体积的数份,一份加入溶剂,另外几份分别加入不同体积(或量)的标准溶液,制成标准系列,测定后,标准曲线的延长线与浓度坐标的交点为样品值。

5.6.1.2 标准曲线(或工作曲线)的测定范围在规定的采样体积和测定条件下,满足 0.1 倍~3 倍职业接触限值的测定。

5.6.1.3 标准曲线(或工作曲线)的浓度点(包括试剂空白):光度法(包括分光光度法和原子光谱法等)至少为 5 个,色谱法和电化学法至少为 4 个。

5.6.1.4 标准曲线(或工作曲线)的绘制:每个浓度至少测定 3 次,以 3 次测定值的均值与相应的浓度绘制标准曲线(或工作曲线),计算回归方程和相关系数。

- a) 相关系数的要求:石墨炉原子吸收法应 ≥ 0.99 ,其他方法应 ≥ 0.999 ;
- b) 线性范围:以标准曲线(或工作曲线)的上下弯曲点之间的直线部分为线性范围。

5.6.2 最低检出浓度试验

最低检出浓度是指在一定的置信水平下,在采集一定体积生物样品时,测定方法能够检出样品中待测物的最低浓度。通常以生物材料中待测物的浓度表示,并注明分析时的样品体积或量。可采用下列试验方法之一。最低检出浓度应 ≤ 0.1 倍职业接触生物限值。

5.6.2.1 标准差法

将测定仪器调节至最佳测定状态,按研制的测定方法连续测定 10 次空白溶液或接近空白浓度的溶液,由测定值计算浓度平均值和标准差;空白溶液测得的最低检出浓度等于 3 倍标准差。接近空白浓度的溶液测得的最低检出浓度,按式(1)计算:

$$c_{\text{最低}} = 3 \times s \times \frac{\bar{c}}{c} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- $c_{\text{最低}}$ ——最低检出浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- s ——标准差,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- $\bar{c}$ ——平均值,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- c ——浓度值,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)。

5.6.2.2 噪声法

将测定仪器调节至最佳测定状态,测量基线的噪声,最低检出浓度等于 3 倍噪声所对应的待测物浓度。

5.6.3 精密度的试验

包括样品处理和测定全过程。选择标准曲线测定范围内的高、中、低 3 个浓度,在 3 d~5 d 内进行

6 次重复测定, 计算其相对标准偏差(RSD)。要求 $RSD \leq 10\%$ 。

5.6.4 准确度的试验

可采用下列试验方法之一。

5.6.4.1 样品加标回收法

取几份接触者新鲜样品, 制成均匀的混合样品。然后分成 4 组, 每组 6 个样品, 一组为空白, 其余三组分别加入 3 个浓度的标准溶液, 加入量一般为 0.5 倍、1 倍、2 倍职业接触生物限值, 混合均匀, 各测定 3 次, 取平均值, 减去空白后, 按式(2)计算每个浓度的加标回收率。然后计算平均加标回收率。平均加标回收率应在 75%~105% 之间。

$$R = \frac{m}{M} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

R ——加标回收率, %;

m ——测得的待测物量, 单位为微克(μg);

M ——加入样品的待测物量, 单位为微克(μg)。

试验时应注意加标后的待测物浓度不应超过标准曲线的线性范围。

5.6.4.2 标准物质法

用研制的测定方法测定高低水平的、与样品基体相同或相似的标准物质各一组。测定值应在标准物质的标定值范围内。

5.6.4.3 比对法

用研制的测定方法与已颁布的标准测定方法或公认的经典方法进行对比测定, 同时对测定范围内的高、中、低 3 个浓度各进行 6 次测定。将测定结果做等效性检验。

5.6.5 样品的萃取或消解效率的试验

试验方法同 5.6.4.1, 按式(2)计算各个浓度的萃取或消解效率, 并计算平均萃取或消解效率。

各个浓度的萃取或消解效率应 $\geq 75\%$ 。

5.6.6 干扰试验

选择干扰物应考虑工作场所空气中的共存物和生物样品的基体及其他成分, 根据研制方法的原理和消除干扰的措施, 选择可能干扰测定的物质作为试验对象。

取测定方法测定范围的中间浓度 3 个~5 个标准溶液, 一个不加干扰物, 其余的分别加入不同量的干扰物, 测得结果后进行比较。有多个干扰物共存时, 可以分别试验, 也可联合试验。

干扰物对测定结果所造成的偏差 $> \pm 10\%$ 时, 表示有干扰。有干扰时, 应说明干扰的程度, 并尽可能提出消除方法。

5.6.7 样品稳定性试验

取几份接触者新鲜样品, 制备成一个均匀的混合样品, 待测物浓度为测定范围的中等浓度。分成 4 组, 每组 6 个样品。保存在一定条件下, 于当天、第 3 天、第 7 天、第 14 天各测定 1 组。保存温度分 4 个档次: 室温、冷藏(4°C)、冷冻(-8°C)、低温(-20°C 以下)。

按式(3)分别计算下降率, 下降率 $\leq 10\%$ 的天数为稳定时间。

$$R = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

R ——下降率, %;

m_1 ——当天的测定均值, 单位为微克(μg);

m_2 ——保存天的测定均值, 单位为微克(μg)。

5.7 验证试验

5.7.1 研制的新测定方法

- a) 应经 3 家有相应资质的实验室验证,研制者提供检测方法和必需的条件,验证者经实验室验证后,向研制者提出验证报告;
- b) 验证内容包括标准曲线的测定范围、最低检出浓度、精密度、准确度、干扰试验和样品的稳定性。验证方法应采用本部分的方法,性能要求应满足本部分的要求。

5.7.2 引进国际或国外的标准测定方法

- a) 当等同采用或无重要修改采用公认的国际或国外标准测定方法时,经采用者按 5.7.1 的验证内容进行验证后,不再需其他实验室验证;
- b) 当有重要改动时,按本部分的要求由引进的实验室进行验证,还需有 2 家有相应资质的实验室对修改后的测定方法按 5.7.1 验证内容进行验证。

5.8 现场应用

5.8.1 用研制的测定方法对接触不同待测物浓度的职业接触人群和对照人群的样品进行测定,接触组和对照组各组样本量至少 10 例,观察测定方法的适用性。

5.8.2 在测定生物材料的同时,测定工作场所空气中待测物的浓度,计算两组测定结果,并观察两组的相关关系。

5.9 资料的整理与分析

- a) 资料调研、采样时机及方法、样品处理方法、测定方法和方法的性能指标等试验都要有完整的原始记录,并可回溯;
- b) 数据处理过程中,数据的取舍及修约应符合 GB/T 8170 的要求,结果的整理分析应符合统计学要求;
- c) 正确使用法定计量单位。

5.10 标准测定方法的提出

5.10.1 根据国内外文献的调研,经过实验室研制和验证,证明测定方法的性能指标符合本部分的要求,可建议作为标准测定方法。

5.10.2 标准测定方法的内容应包括范围、原理、仪器、试剂、样品的采集运输和保存、分析步骤、计算和说明等。在说明中,应说明该方法的主要性能指标,包括最低检出浓度、测定范围、精密度、准确度、干扰及消除方法等,还应说明采样和测定中的注意事项。

6 基本要求

6.1 测定方法应满足职业接触生物限值的要求:

- a) 最低检出浓度应能检测 0.1 倍该化学物质的职业接触生物限值,最好能检测正常参考值;
- b) 应满足职业接触生物限值对采样和检测的要求。

6.2 测定方法应包括采样、样品预处理和测定三部分,三部分应紧密衔接。方法的操作尽可能简便、安全、省时。

6.3 测定方法具有一定的特异性,常见的工作场所共存物和生物材料的基体不干扰测定或可被消除,尽可能排除非职业接触因素的影响。

6.4 质量保证应符合 GBZ/T 173 的要求。

6.5 标准测定方法的制定

6.5.1 新的标准测定方法的制定

- a) 国内外没有标准测定方法需要制定新的标准测定方法;
- b) 有新技术、新方法可替代原有测定方法时,应及时更新,制定新标准方法;
- c) 制定新的标准测定方法时,按照本部分的要求进行。

6.5.2 引进国际或国外的标准测定方法

- a) 优先引进国际上公认的标准测定方法；
- b) 引进国际或国外标准测定方法时，要按本部分要求进行验证；
- c) 引进国际或国外标准测定方法时，应提供标准测定方法的原文复制件和译文文本。

6.5.3 修订标准测定方法

在标准测定方法的使用过程中，要追踪其适用性，一旦有证据表明该标准测定方法有理由需要进行修订时，应及时按本部分的要求进行修订。

6.6 编制说明的要求

编制说明的主要内容除依照《卫生标准管理办法》编写外，还应有：

- a) 本方法的研制过程，包括研制的目的和任务；
- b) 采用本方法的理由，包括待测物的理化性质、国内外已有测定方法的比较、本法的科学性、先进性、适用性和可行性及优缺点；
- c) 按本部分进行试验的结果，包括测定方法各项性能指标试验的主要数据和结论；
- d) 引进国际或国外的标准测定方法，应说明该标准测定方法在我国的适用性和可行性；若引进时有修改，则还应说明修改的内容和理由及修改后的可行性；
- e) 修订的标准测定方法应说明修订的理由和修订后的优缺点及适用性和可行性。

6.7 警示

6.7.1 对于健康和环境有危险或有危害的试验方法，要根据试样、试剂或操作三种情况，分别给予适当的警示。

6.7.2 对于试样有危险的，应在试验方法一开始就提出警示。

6.7.3 对于试剂或仪器有危险的，应在“试剂”或“仪器材料”一开始就提出警示。对于有环境危害作用的试剂应按规定回收和处理。

6.7.4 对于操作有危险的，应在“操作步骤”一开始就提出警示。

6.7.5 警示内容一般需注明注意事项，相应的防护措施，以及发生事故后应采取的急救措施。