

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 300.153—2017
部分代替 GBZ/T 160.76—2004

工作场所空气有毒物质测定 第 153 部分：磷胺、内吸磷、甲基内吸磷 和马拉硫磷

Determination of toxic substances in workplace air—
Part 153: Phosphamidon, demeton, methyldemeton and malathion

2017-11-09 发布

2018-05-01 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本部分为GBZ/T 300的第153部分。

本部分按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本部分由GBZ/T 160.76—2004《工作场所空气有毒物质测定有机磷农药》中分出，单独成为本部分，并做了如下修改：

——修改了标准名称；

——增加了待测物的基本信息；

——改进了空气采样和标准系列浓度的表达；

——补充了样品空白要求和方法性能指标。

本部分中的主要起草单位和主要起草人：

——磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷的溶液吸收-酶化学法

主要起草单位：上海市疾病预防控制中心。

主要起草人：亓家豪。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB 8778—1988 附录A；

——GBZ/T 160.76—2004。

工作场所空气有毒物质测定

第 153 部分：磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷

1 范围

GBZ/T 300的本部分规定了工作场所空气中磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷的溶液吸收-酶化学法。

本部分适用于工作场所空气中蒸气态和雾态磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷浓度的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GBZ 159 工作场所空气中有害物质监测的采样规范

GBZ/T 210.4 职业卫生标准制定指南第4部分：工作场所空气中化学物质的测定方法

3 磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷的基本信息

磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷的基本信息见表1。

表1 磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷的基本信息

化学物质	化学文摘号 (CAS号)	分子式	相对分子质量
磷胺 {0,0-二甲基-0-[2-氯-2-(二乙基氨基甲酰-1-甲基)]乙烯基磷酸酯Phosphamidon}	13173-21-6	C ₁₀ H ₁₉ ClN _{0.5} P	299.68
内吸磷 {0,0-二乙基-0-(2-乙基硫代乙基)硫代磷酸酯,一〇五九Demeton}	8065-48-3	C ₈ H ₁₉ O ₃ PS ₂	258.34
甲基内吸磷 {0,0-二甲基-0-(2-乙基硫代乙基)硫代磷酸酯, Methyl demeton}	8022-00-2	C ₆ H ₁₅ O ₃ PS ₂	230.29
马拉硫磷 {0,0-二甲基-S-[1,2-二(乙氧基羰基)乙基]二硫代磷酸酯, Malathion}	121-75-5	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330.36

4 磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷的溶液吸收-酶化学法

4.1 原理

空气中的蒸气态和气溶胶态磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和马拉硫磷用装有甲醇溶液的多孔玻板吸收管采集，有机磷农药抑制胆碱酯酶，影响乙酰胆碱的水解，由测定乙酰胆碱的量，进行有机磷农药的定量测定。

4.2 仪器

- 4.2.1 多孔玻板吸收管。
- 4.2.2 空气采样器，流量范围为 0L/min~2L/min。
- 4.2.3 具塞比色管，10mL、25mL。
- 4.2.4 恒温水浴锅。
- 4.2.5 秒表。
- 4.2.6 分光光度计，具 1cm 比色皿。

4.3 试剂

- 4.3.1 实验用水为蒸馏水，试剂为分析纯。
- 4.3.2 甲醇溶液，5%（体积分数）。
- 4.3.3 缓冲液，pH=7.2：溶解 1.672g 磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 和 0.272g 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 于 100mL 水中。
- 4.3.4 氯化乙酰胆碱溶液：0.1000g 氯化乙酰胆碱溶于 100mL 缓冲液中，保存于冰箱内。
- 4.3.5 碱性羟胺溶液：临用前，将 139g/L 盐酸羟胺溶液与 140g/L 氢氧化钠溶液等体积混合。
- 4.3.6 三氯乙酸溶液：10g 三氯乙酸溶于 100mL 6mol/L 盐酸溶液中。
- 4.3.7 三氯化铁溶液，100g/L：将 10g 三氯化铁加到 0.84mL 盐酸 ($\rho_{20}=1.18\text{g/mL}$) 及少量水中，微热使溶解，然后加水至 100mL。
- 4.3.8 胆碱酯酶溶液：以健康马血清为酶源，用缓冲液稀释成酶活力为 70%~80%，保存于冰箱内。

酶活力测定方法：取 3mL 健康马血清置于 25mL 容量瓶中，用缓冲液稀释至刻度。以此马血清溶液按表 2 配制酶活力标准管。

表2 酶活力标准管

项目	管号					
	0 (A)	1	2	3	4	5
马血清溶液/mL	0.0	0.20	0.40	0.60	0.80	1.0
缓冲液/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0.0
相当于每25mL纯马血清毫升数/mL	0.0	0.6	1.2	1.8	2.4	3.0

各管加入 1mL 水，置于 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 恒温水浴中预热 10min；向各管加入 1.0mL 氯化乙酰胆碱溶液，每隔 1min 加 1 管。在恒温水浴中，准确反应 30min，不时振摇，按顺序从水浴中取出，准时加入 2mL 碱性羟胺溶液，每隔 1min 加 1 管，强烈振摇 4min；再向各管加入 1mL 三氯乙酸溶液，摇匀后，加入 1mL 三氯化铁溶液，摇匀，过滤。滤液用分光光度计在 520nm 波长下，以水作参比，测量吸光度。用式 (1) 计算水解百分数；取水解百分数为 70%~80% 的马血清作标准，根据马血清含量 (25mL 中含纯马血清毫升数) 来配制胆碱酯酶溶液。

$$S = \frac{A - X}{A} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

式中：

S ——氯化乙酰胆碱被酶水解百分数，%；

A ——零管的吸光度；

X ——各管的吸光度。

4.3.9 溴水：用水稀释 0.4mL 饱和溴水至 100mL。

4.3.10 标准溶液：分别准确称取一定量的磷胺、内吸磷、甲基内吸磷和/或马拉硫磷，溶于甲醇，定量转移至容量瓶中，并稀释至刻度，此溶液为标准贮备液。临用前，用甲醇溶液稀释成 2.0 μ g/mL 磷胺、内吸磷、甲基内吸磷或马拉硫磷标准溶液。或用国家认可的标准溶液配制。

4.4 样品的采集、运输和保存

4.4.1 现场采样按照 GBZ 159 执行。

4.4.2 短时间采样：在采样点，用装有 5.0mL 甲醇溶液的多孔玻板吸收管，以 1.0L/min 流量采集 ≥ 15 min 空气样品；磷胺需要采集 ≥ 25 min 空气样品。采样后，立即封闭多孔玻板吸收管的进出气口，放置于清洁的容器内运输和保存；样品应在 24h 内测定。

4.4.3 样品空白：在采样点，打开装有 5.0mL 甲醇溶液的多孔玻板吸收管的进出气口，并立即封闭，然后同样品一起运输、保存和测定。每批次样品不少于 2 个样品空白。

4.5 分析步骤

4.5.1 样品处理：用多孔玻板吸收管中的样品溶液洗涤进气管内壁 3 次后，取 1.0mL 样品溶液置 25mL 具塞比色管中，供测定。

4.5.2 标准曲线的制备：取 9 支 25mL 具塞比色管，按表 3 制备待测物的标准系列。

表3 待测物的标准系列

项目	管号								
	0 (C)	1	2	3	4	5	6	7	B
标准溶液/mL	0.0	0.05	0.10	0.20	0.40	0.60	0.80	1.0	0.0
甲醇溶液/mL	1.0	0.95	0.90	0.80	0.60	0.40	0.20	0.0	1.0
待测物含量/ μ g	0.0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	0.0

马拉硫磷测定时，各管应加入 1.0mL 溴水。

B管加入 1mL 缓冲液。摇匀后，各管（包括 B 管）放入 37 \pm 0.5 $^{\circ}$ C 恒温水浴中预热 10min；然后，除 B 管外，其余各管加入 1mL 胆碱酯酶溶液，每隔 1min 加一管。在恒温水浴中准确反应 30min，再依次每隔 1min，加入 1.0mL 氯化乙酰胆碱溶液，再反应 30min，不时振摇；然后，依次每隔 1min 加入 2mL 碱性羟胺溶液，依次从水浴中取出，强烈振摇 4min，再加入 1mL 三氯乙酸溶液，摇匀，各加入 1mL 三氯化铁溶液，摇匀后过滤，于 520nm 波长下，以水作空白参比液，分别测定标准系列各浓度滤液的吸光度。将测得的吸光度按式（2）计算出胆碱酯酶被有机磷农药抑制的百分数（或称百分抑制率）。用待测物的含量（ μ g）对相应的胆碱酯酶百分抑制率（%）绘制标准曲线或计算回归方程。

$$\text{胆碱酯酶百分抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{B - X}{B - C}\right) \times 100 = \frac{X - C}{B - C} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

式中:

B 、 C ——B管和C管的吸光度;

X ——样品管的吸光度。

4.5.3 样品测定: 用测定标准系列的操作条件测定样品溶液和样品空白溶液, 测得的胆碱酯酶百分抑制率由标准曲线或回归方程得样品溶液中待测物的含量(μg)。若样品溶液中待测物的浓度超过测定范围, 用甲醇溶液稀释后测定, 计算时乘以稀释倍数。

4.6 计算

4.6.1 按 GBZ 159 的方法和要求将采样体积换算成标准采样体积。

4.6.2 按式(3)计算空气中磷胺、内吸磷、甲基内吸磷或马拉硫磷的浓度:

$$C = \frac{5M}{V_0} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

C ——空气中磷胺、内吸磷、甲基内吸磷或马拉硫磷的浓度, 单位为毫克每立方米(mg/m^3);

M ——测得的1mL样品溶液中磷胺、内吸磷、甲基内吸磷或马拉硫磷的含量(减去样品空白), 单位为微克(μg);

5——样品溶液的体积, 单位为毫升(mL);

V_0 ——标准采样体积, 单位为升(L)。

4.6.3 空气中的时间加权平均接触浓度(C_{TWA})按 GBZ 159 规定计算。

4.7 说明

4.7.1 本法按照 GBZ/T 210.4 的方法和要求进行研制。本法的定量下限、定量测定范围、最低定量浓度(以采集 15L 空气样品计, 磷胺以 25L 空气样品计)和相对标准偏差等方法性能指标见表 4。

表 4 方法的性能指标

性能指标	化学物质			
	磷胺	内吸磷	甲基内吸磷	马拉硫磷
定量下限/($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.1	0.075	0.2	0.1
定量测定范围/($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.1~2	0.075~2	0.2 ~2	0.1~2
最低定量浓度/(mg/m^3)	0.02	0.025	0.07	0.03
相对标准偏差/%	2.5~8.5	2.5~8.5	2.5~8.5	2.5~8.5

4.7.2 每批马血清需测定酶的活力。在冰箱内保存时间超过一个月, 应重新测定酶活力。

4.7.3 反应温度和时间对测定结果影响很大, 必须准确控制在 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 及 $30\text{min} \pm 0.5\text{min}$ 之内。加入三氯乙酸后, 必须振摇均匀, 放置使血清中蛋白质沉淀完全后再过滤, 滤液必须澄清, 若有混浊, 必须重新过滤。滤液中加入三氯化铁后, 必须强力振摇, 否则产生的大量气泡会影响吸光度的测量。显色以后, 应在 30min 内测定完毕。