

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 300.160—2017

代替 GBZ/T 160.81—2004

工作场所空气有毒物质测定 第 160 部分：洗衣粉酶

Determination of toxic substances in workplace air—

Part 160: Enzymes in washing powder

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160部分。

本部分按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本部分代替GBZ/T 160.81—2004《工作场所空气有毒物质测定 生物类化合物》。

本部分与GBZ/T 160.81—2004相比，主要修改如下：

——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：

——洗衣粉酶的溶剂洗脱-抗体结合-比色法

主要起草单位：复旦大学医学院公共卫生学院。

主要起草人：梁友信。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

——GBZ/T 160.81—2004。

工作场所空气有毒物质测定

第 160 部分：洗衣粉酶

1 范围

GBZ/T 300的本部分规定了工作场所空气中洗衣粉酶的溶剂洗脱-抗体结合-比色法。
本部分适用于工作场所空气中气溶胶态洗衣粉酶浓度的检测。

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 洗衣粉酶的溶剂洗脱-抗体结合-比色法

3.1 原理

空气中气溶胶态含酶洗衣粉用超细玻璃纤维滤纸采集，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，用酶标仪测量吸光度，测定酶的浓度。

3.2 仪器

3.2.1 超细玻璃纤维滤纸。

3.2.2 大采样夹，滤料直径为 37mm 或 40mm。

3.2.3 小采样夹，滤料直径为 25mm。

3.2.4 空气采样器，流量 0L/min~2L/min 和 0L/min~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

3.3.1 实验用水为去离子水，试剂为分析纯，于 4℃ 冰箱保存。

- 3.3.2 抗体包被缓冲液, pH9.6±0.2: 0.151g 碳酸钠和 0.293g 碳酸氢钠溶于 100mL 水中, 可保存 2 个月。
- 3.3.3 洗板液: 29.22g 氯化钠、0.186g Tris 和 0.1g 牛血清白蛋白(BSA)溶于 100mL 水中, 用 6mol/L 盐酸溶液调 pH 至 8.0, 加入 0.05mL 吐温 20, 混匀, 可保存 7d。
- 3.3.4 枸橼酸-磷酸缓冲液, pH5.0±0.2: 0.730g 枸橼酸和 2.387g 磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)溶于 100mL 水中, 可保存 1 个月。
- 3.3.5 BSA 封闭液: 2.0g BSA 溶于 100mL 洗板液中。
- 3.3.6 洗脱液: 2.922g 氯化钠、0.093g Tris、0.496g 硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)和 0.0147g 氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶于约 80mL 水中, 加入 0.1g BSA, 溶解后, 用 6mol/L 盐酸溶液调 pH 至 8.0, 转移到 100mL 容量瓶中, 定容后加入 0.10mL 吐温 20, 混匀, 可保存 7d。
- 3.3.7 邻苯二胺(OPD)溶液, pH5.0: 8.0mg OPD 置于 50mL 棕色瓶中, 加入 15mL 枸橼酸-磷酸缓冲液, 溶解后, 加入 5 μL 过氧化氢(30%), 混匀。临用前配制。若溶液变黄, 应重新配制。
- 3.3.8 兔抗体包被溶液: 用 10mL 抗体包被缓冲液稀释 10 μL 兔抗血清, 混匀。
- 3.3.9 豚鼠抗体: 用 10mL 洗板液稀释 10 μL 豚鼠抗体, 混匀。
- 3.3.10 标有过氧化物酶的兔抗豚鼠抗体: 用 10mL 洗板液稀释 10 μL 标有过氧化物酶的兔抗豚鼠抗体, 混匀。
- 3.3.11 硫酸溶液, 1mol/L。
- 3.3.12 标准酶, 用国家认可的洗衣粉酶。

3.4 样品的采集、运输和保存

- 3.4.1 现场采样按照 GBZ 159 执行。
- 3.4.2 短时间采样: 在采样点, 用装好超细玻璃纤维滤纸的大采样夹, 以 5.0L/min 流量采集 15min 空气样品。
- 3.4.3 长时间采样: 在采样点, 用装好超细玻璃纤维滤纸的小采样夹, 以 1.0L/min 流量采集 2h~8h 空气样品。
- 3.4.4 采样后, 打开采样夹, 取出滤纸, 接尘面朝里对折两次, 放入清洁的塑料袋或纸袋中, 置清洁容器内运输和保存。样品宜尽快测定。
- 3.4.5 样品空白: 在采样点, 打开装好超细玻璃纤维滤纸的采样夹, 立即取出滤纸, 放入清洁的塑料袋或纸袋中, 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。

3.5 分析步骤

- 3.5.1 样品处理: 将超细玻璃纤维滤纸放入烧杯内, 加 25.0mL 洗脱液, 洗脱 20min, 不时振摇。样品溶液用滤纸过滤或离心后供测定。
- 3.5.2 标准曲线的制备: 在 8 支容量瓶中, 用标准酶配制成 0.0ng/mL~6.0ng/mL 标准系列。于酶标板的每个孔中加 100 μL 兔抗体包被溶液, 置 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内放置过夜。加样时, 加样头不可接触酶标板底部, 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 μL 。然后加 200 μL 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。向每个孔中加入 50 μL 标准酶溶液, 全部加平行样。加入 50 μL 豚鼠抗体。将酶标板放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内, 反应 90min。取出, 每个孔用洗板液洗涤 3 次, 每次约 250 μL 。各加入 100 μL 标有过氧化物酶的兔抗豚鼠抗体, 再置 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内, 反应 90min。取出, 每个孔用洗板液洗涤 3 次, 每次约 250 μL 。用枸橼酸-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 μL OPD 溶液; 放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 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 μL 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（双波长法的波长为 492nm 和 620nm）。以测得的吸光度值对相应的酶浓度（ng/mL）绘制标准曲线或计算回归方程。

3.5.3 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，测得的吸光度值由标准曲线或回归方程得样品溶液中酶浓度（ng/mL）。若样品溶液中酶的浓度超过测定范围，用洗脱液稀释后测定，计算时乘以稀释倍数。

3.6 计算

3.6.1 按 GBZ 159 的方法和要求将采样体积换算成标准采样体积。

3.6.2 按式（1）计算空气中酶的浓度：

$$C = \frac{25C_0}{V_0} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C ——空气中酶的浓度，单位为微克每立方米（ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）；

25——样品溶液的体积，单位为毫升（mL）；

C_0 ——测得的样品溶液中酶的浓度（减去样品空白），单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V_0 ——标准采样体积，单位为升（L）。

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

3.7 说明

3.7.1 本法按照 GBZ/T 210.4 的方法和要求进行研制。本法的定量下限为 0.05ng/mL，定量测定范围为 0.05 ng/mL~6ng/mL；以采集 75L 空气样品计，最低定量浓度为 0.017 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ；相对标准偏差为 2%~8%，采样效率为 95%以上，洗脱回收率为 90%以上。

3.7.2 空气中共存物不干扰测定。