

卫生标准制（修）订项目编号：20251802

血中 *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物的 测定 气相色谱-质谱法

编制说明

Determination standard of *N*-methylcarbamoylated haemoglobin in blood

Gas chromatography-mass spectrometry

（送审稿）

江苏省疾病预防控制中心

2026 年 3 月 5 日

一、项目基本情况

（一）任务来源与项目编号

《血中 *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物的测定 气相色谱-质谱法》标准项目是 2025 年由国家卫生健康委下达的第二批卫生健康标准计划项目，项目编号 20251802。本编制说明是 GBZ 2.1-2019《工作场所有害因素职业接触限值：化学有害因素》中二甲基甲酰胺的生物监测标志物 *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物（NMHb）的配套检测标准。

（二）标准起草背景

二甲基甲酰胺（*N,N*-dimethylformamide, DMF），是一种无色透明有机溶剂，工业品呈淡胺味，其沸点高、凝固点低、化学和热稳定性好，能和水及大部分有机溶剂互溶，是一种重要的化工原料和性能优良的有机溶剂。广泛应用于聚氨酯（PU）、腈纶、医药、农药、染料、电子等行业。据了解，我国已成为 DMF 生产和消费增长最快速的国家。

在 DMF 的生产和使用场所，DMF 可经呼吸道和皮肤吸收，除引起皮肤、粘膜刺激症状外，主要的健康危害有以下几个方面：

- 1、肝脏及消化系统毒性。临床病例报告和职业暴露人群横断面研究表明，肝脏是 DMF 毒性作用最主要的靶器官，作业工人 DMF 急性中毒累及肝脏后，会出现不同程度的急性肝损伤，引起肝脏毒性及消化系统的相关疾病。
- 2、泌尿系统毒性。临床上 DMF 急性中毒可引起急性中毒性肾病，查体可有肾区叩痛，尿常规检查可见尿蛋白阳性、尿中潜血或尿胆原阳性等。DMF 职业暴露人群的亚硝酸盐、酮体等指标阳性率也较一般人群明显升

高。3、心脏毒性。国内外研究表明，DMF 职业暴露人群的心电图异常率明显增加，心功能明显异常，有心动过速和心悸等表现，患缺血性心脏病的死亡率升高。4、免疫系统毒性。DMF 对细胞免疫、体液免疫及单核巨噬系统等机体多个免疫功能均有不同程度的损伤，主要以细胞免疫毒性较为显著。5、生殖系统毒性。对 DMF 接触暴露工人开展流行病学调查，发现女工月经异常者明显增多，DMF 损伤男性性腺，导致精子异常，影响受精或胚胎停育。6、致癌性。DMF 职业暴露人群睾丸肿瘤、口腔或咽喉部肿瘤、肺癌、前列腺癌、胃癌、神经系统肿瘤及膀胱癌的发病率增加。因此，选择合适的生物标志物并准确定量对于职业接触人群的健康风险评估具有重要意义。DMF 的生物标志物主要有以下 4 种，其特点及应用见表 1-1。

表 1-1 DMF 的生物标志物的特点及应用

生物标志物	特点	应用
N-羟基甲基-N-甲基甲酰胺 (N-hydroxymethyl-N-methylformamide, HMMF)	HMMF 是 DMF 体内主要的代谢产物，但尿中 HMMF 不稳定，检测时遇热易分解。	较少用尿中 HMMF 来反映 DMF 接触者的内暴露水平。
甲基甲酰胺 (N-methylformamide, NMF)	NMF 由 HMMF 部分脱羟甲基分解成。其生物半减期是 5.1 h。	可作为接触 DMF 的近期生物标志物。
N-乙酰基-S-(N-甲基氨基甲酰基)-半胱氨酸 (N-acetyl-S-(N-methylcarbamonyl)-cysteine, AMCC)	AMCC 是 DMF 的体内活性中间产物 MIC 与谷胱甘肽作用后生成的产物，在体内代谢缓慢而且有蓄积作用。AMCC 半衰期为 23 h。	推断过去 5 日内连续接触 DMF 的平均浓度。
N-甲基氨基甲酰血红蛋白加合物 (N-methylcarbamoyl adduct, NMHb)	DMF 在人体中的活性代谢中间产物异氰酸甲酯 (Methylisocyanate, MIC) MIC 进入红细胞，与血红蛋白结合形成 N-甲基氨基甲酰加合物 NMHb。可通过埃德曼降解生成 3-甲基-5-异丙基乙内酰脲 (3-methyl-5-isopropylhydantoin,	反映 DMF 长期接触水平。

	MVH)。加合物一旦形成可存在于整个红细胞生命周期,在较长的时间内可维持相对稳定的水平。	
--	--	--

由上表可知, *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物 (NMHb) 可反映 DMF 长期接触水平, 且 GBZ 2.1-2019《工作场所有害因素职业接触限值: 化学有害因素》选用 NMHb 作为生物监测标志物, 并规定血中 NMHb 的生物限值为 135 nmol/g Hb, 但没有标准检测方法。本项目为生物限值的配套检测标准。

(三) 各起草单位和起草人工作分工

本项目主要参与人员及所承担的工作见表1-2。

表1-2 项目人员情况表

序号	姓名	性别	职称/职务	单 位	所承担的工作
1	韩磊	男	主任医师/副所长	江苏省疾病预防控制中心	项目总负责人、标准制定牵头人
2	仲立新	男	主任技师	江苏省疾病预防控制中心	课题设计、组织协调、方法学验证
3	赵圆	女	副主任医师/副所长	江苏省疾病预防控制中心	文献调研、组织协调
4	杨翔	男	技师	江苏省疾病预防控制中心	方法学研究, 数据分析
5	顾振扬	男	技师	江苏省疾病预防控制中心	方法学研究, 数据分析
6	王宏毅	男	药师	江苏省疾病预防控制中心	标准文本及编制说明起草, 方法学研究
7	刘立	女	技师	江苏省疾病预防控制中心	文献调研, 方法学研究
8	宋振威	男	副主任技师	无锡市第八人民医院	标准适用性验证
9	周洁丹	女	高级工程师	广东省职业病防治院	标准适用性验证
10	刘武宾	男	助理研究员	国家卫生健康委职业安全卫生研究中心	标准适用性验证

(四) 标准起草过程

1 前期基础

项目组前期进行了充分的文献调研，并对已有报道的 GC-MS、LC-MS/MS 法的样品处理、检测参数等进行综合评估，确认采用 GC-MS 法，以酸水解蛋白-萃取法提取血中待测物，并考察了酸水解体系、温度及时间、萃取前水相最适 pH 范围等条件，比较了萃取后浓缩方式及直接萃取进样的优劣，已有一定的前期基础。

2 项目启动

2025 年 11 月，标委会通过线上召开项目的启动会，项目负责人介绍了研究技术路线，并根据专家意见进行了修改。同月，对各参与单位的具体任务进行了协调和分工。

3 项目进程

见表 1-3。

表 1-3 项目研制过程	
时间	主要工作内容
2024 年 10 月至 2025 年 10 月 项目预研究	文献检索，并对现有方法的样品处理、检测参数等进行评估
2025 年 11 月至 2025 年 12 月	确定实验室检测方法参数
2026 年 1 月至 2026 年 2 月	起草编制说明，验证单位进行标准适用性验证
2026 年 3 月至 2026 年 4 月	向社会发布征求意见稿，征求所制定标准的意见和建议
2026 年 4 月至 2026 年 6 月	标委会初审，向标委会成员征求意见，收集反馈的意见对文本进行补充、修改
2026 年 7 月	标准送审

4 文本修改过程

(1) 起草初稿

2026 年 1 月至 2026 年 2 月编制标准文本和编制说明。

(2) 专家讨论

2026年3月召集各参与单位，讨论标准的初稿及编制说明，并进行修订。

（3）社会征求意见

2026年3月，发出征询函*份，回复*份，未回复*份。本标准共征集意见*条，*条意见被采纳，*条意见未被采纳，具体见征求意见汇总表。

（4）标委会预审会议意见及处理情况

2026年6月在职业健康标委会预审会议上，根据会议纪要共收集整理审查意见**条，按照提出的意见进行修改。

（5）标委会委员意见及处理情况

向标委会各位委员发出**份意见征求函，回复**份，未回复**份，共收到**条意见，其中**条为无意见，**条具体意见中**条未采纳，其余均予以采纳。

（6）研制过程中所做的重大修改和调整
无。

（7）标准审查结果及审查意见处理情况。

2026年8月在职业健康标委会终审会上，根据会议纪要共收集整理审查整体意见**条，具体意见**条，按照提出的意见进行修改。

二、各项技术内容依据

（一）标准编制原则和技术路线

本标准按以下原则编制。

1 目的性：本标准明确规定了适用范围，清晰界定了其适用范围。

2 科学性：本标准基于充分的科学依据和实践经验，结合国内现状，确保标准的合理性和可靠性。标准的制定基于现有文献，且对文献方法进行了系统评估及优化，具有一定的科学性。

3 协调性：本标准与二甲基甲酰胺生物限值相配套，在编写标准时，考虑与类似生物样品检测方法标准的关系，确保与最近发布的类似标准一致性、协调性。

4 规范性：标准使用的仪器设备是目前生物监测中常用的气相色谱-质谱联用仪，经过三家验证单位的验证，符合 GBZ/T 210.5-2008 及 GBZ/T 295-2017 的要求，标准中的条款清晰、具体，易于理解和执行。

5 公正性：标准的制定广泛征求了高校、疾病预防控制中心、职业病防治院以及不同级别机构的意见，确保各方利益的平衡。

6 透明性：标准的制定过程公开透明，接受社会监督。标准的征求意见稿在相关网站上公布，便于公众了解并参与讨论。

技术路线见图 1-1：

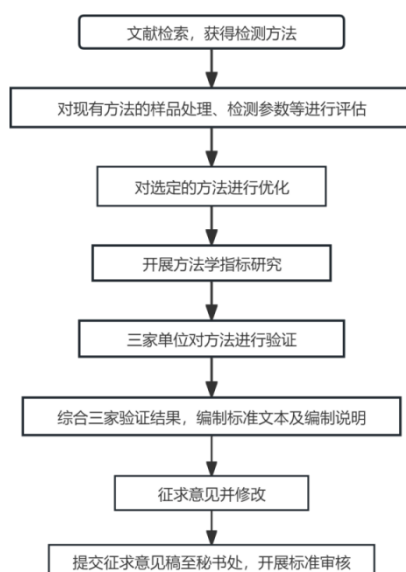


图 1-1 技术路线

（二）主要内容及其确定依据

标准中各项重要技术指标依据如下：

1 方法原理与依据

血中的 *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物 (NMHb) 经酸水解为等摩尔的 3-甲基-5-异丙基乙内酰脲 (3-methyl-5-isopropylhydantoin, MVH) 后，用乙酸乙酯萃取，经气相色谱-质谱 (GC-MS) 分离检测，以保留时间和特征离子及其丰度比定性，3-甲基-5-异丁基海因 (3-methyl-5-isobutylhydantoin, MIH) 作为内标，工作曲线法进行定量。

2 仪器与试剂

仪器设备：气相色谱-质谱联用仪 (安捷伦, 型号: 8890-7010D 编号: 17-2289)；毛细管色谱柱 (5% 苯基-甲基聚硅氧烷固定相, 规格: 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, DB-5Q)；电子分析天平 (万分之一, 型号: 梅特勒-托利多, ML203/02)；电热恒温水浴箱 (控温精度 ±1℃, 型号: WIGGENS WA20)；高速冷冻离心机 (型号: Dynamica B18RPUS)；真空离心浓缩仪 (型号: 净信 JX-ZLN-EL)；漩涡混匀器 (型号: 杭州奥盛仪器 NTV-100)；精密酸度计 (测量范围 pH 0.00~14.00, 测量精度 pH 0.01) 或精密 pH 试纸 (精度为 0.1)；进样瓶 (2 mL)；容量瓶 (10 mL、50 mL、100 mL)；离心管 (15 mL 塑料圆底)。

试剂：去离子水，电导率 ≥ 18.2 MΩ·cm。盐酸、冰醋酸为优级纯；硫酸铵、氢氧化钠、无水硫酸钠为分析纯；乙酸乙酯、甲醇为色谱纯；牛血清白蛋白 (BSA)：纯度 ≥ 98 %。

标准品：MVH 和 MIH：标准物质或色谱纯试剂（纯度 $\geq 99.0\%$ ）；

溶液：磷酸盐缓冲溶液：称取 80.0 g 氯化钠、2.0 g 氯化钾、35.8 g 十二水合磷酸氢二钠、2.4 g 磷酸二氢钾溶于 1000 mL 水中。或可直接购买成品（PBS，10 \times ）。甲醇-水溶液（1：1，V：V）；盐酸-冰乙酸溶液（2：1，V：V）；氢氧化钠溶液：称取 40.0 g 氢氧化钠，溶于超纯水中，用超纯水定容至 100 mL。

3 样品制备

3.1 样品采集和运输

按 GBZ/T 295 要求采集接触工人静脉血 2.5 mL 于采血管中，立即轻轻摇匀，冷藏运输。

3.2 血红蛋白提取：取血样 2.0 mL 于 15 mL 离心管中，2000 r/min 离心 15 min，弃去上层血浆；加入 7.0 mL 超纯水，轻轻摇晃约 10 s，立即加入 1.0 mL 磷酸盐缓冲溶液，振荡均匀，1000 r/min 离心 5 min，吸取上清液于另一 15 mL 离心管中，得血红蛋白提取液，备用。血液中血红蛋白提取应在 24 h 内进行。

3.3 血红蛋白粉末制备：取上述装有血红蛋白提取液的离心管，放置在真空离心浓缩仪中（45 $^{\circ}\text{C}$ ）干燥至干，制成松散、无结块的血红蛋白粉末约 300 mg。

4 仪器条件

柱温：初温 40 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 1 min，以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升温至 180 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 3 min，以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升温至 300 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 4 min；进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量：1.0 μL ；进样方式：分流进样；分流

比：10：1；离子源温度：280℃；传输线温度：300℃；离子化能量：70 eV；扫描条件：定性选择全扫描模式（SCAN），定量测定选择离子扫描模式（SIM）；MVH 特征离子 m/z 114 、m/z 57，定量离子 m/z 114；MIH 定量离子 m/z 114；载气（氦气）流量：1.2 mL/min。

5 色谱柱选择

考虑到化合物的极性、沸点及其色谱的分离度和质谱灵敏度等因素，我们考察了 DB-1MS、DB-35MS 和 DB-5Q 三根色谱柱。色谱柱的长度、内径和膜厚均为 30 m×0.25 mm×0.25 μm。结果表明,DB-35MS 色谱柱检测目标物 MVH 时响应最高,但 MVH 和 MIH 的保留时间相对 DB-5Q 和 DB-1MS 更长。综合考虑通用性、分析效率和灵敏度等问题，本研究选用了 DB-5Q（30 m×0.25 mm×0.25 μm）色谱柱（表 2-1、图 2-1）。

表 2-1 不同色谱柱检测 MVH 和 MIH 对比

色谱柱	MVH 保留时间	MVH 峰面积	MVH 信噪比	MIH 保留时间	MIH 峰面积	MIH 信噪比
DB-1MS	8.244	129331	297.8	9.299	197396	174.7
DB-35MS	10.820	154180	909.1	12.280	214469	813.8
DB-5Q	8.850	129482	394.4	10.014	223947	196.9

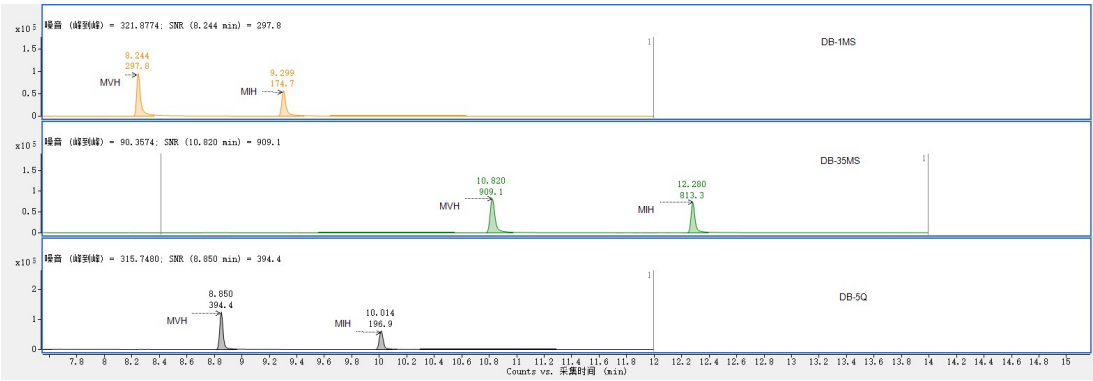


图 2-1 不同色谱柱检测 MVH 和 MIH 的保留时间和信噪比

6 样品处理

6.1 降解条件考察

6.1.1 混酸比例及用量

N-甲基氨甲酰血红蛋白加合物 NMHb 可通过埃德曼降解反应生成等量的 3-甲基-5-异丙基乙内酰脲 (3-methyl-5-isopropylhydantoin, MVH)，反应原理是酸性条件下加热使血红蛋白加合物分解生成 MVH^[1-4]。文献报道使用浓盐酸与醋酸的混合酸体系较佳^[5-7]。为进一步考察混酸比例及用量，本项目使用职业接触人群血红蛋白（约为 300nmol/g Hb）样本进行酸解，系统性优化盐酸与醋酸体积比及用量，通过比较乙酸乙酯分层的程度和有机相中 MVH 的响应强度等，最终选择盐酸-醋酸比例为 2：1（V:V），用量为 5 mL，与文献报道一致。

6.1.2 反应温度及时间

使用接触人群血红蛋白（MVH 约为 200 nmol/g Hb）样本，在加入 5 mL 混酸后（盐酸：醋酸 2：1，V:V），分别对反应温度和反应时长进行了考察。结果表明，95℃加热 1h 效果较好。

表 2-2 反应温度对结果的影响

加热温度	75℃	85℃	95℃
平均峰面积	507977	493874	547611
RSD	7.39%	8.01%	0.74%

注：因反应容器强度原因，100℃水浴下有开裂风险。

表 2-3 反应时长对结果的影响

加热时长	30min	60min	90min	120min
平均峰面积	643052.5	665124.5	676227.25	693887.75
RSD	3.10%	1.38%	2.45%	0.67%

注：95℃水浴下反应 90min 及以上，反应容器有开裂风险。

6.2 盐析剂的种类及用量

降解反应后，在反应液中加入盐析剂有利于提高 MVH 的萃取效率^[4, 5, 7]。萃取过程常用的盐析剂主要有硫酸铵、硫酸钠、硫酸钾、氯化钠等。本项目使用接触人群血红蛋白（约为 200 nmol/g Hb）制备 4 组样品，首先对硫酸铵、硫酸钠、硫酸钾、氯化钠四种盐析剂的效果进行对比，结果表明，硫酸铵组的平均响应强度最高且 RSD 较低。然后对硫酸铵的用量进行了考察，结果表明，硫酸铵用量达到 3.0 g 时，样本的平均响应强度达到平台，继续增加用量无意义。

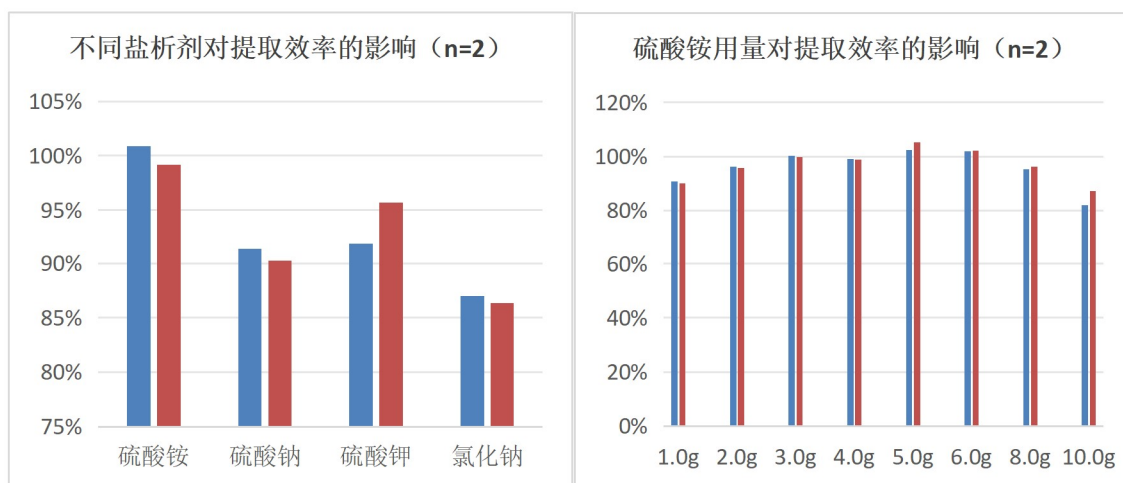


图 2-2 盐析剂的种类及用量对提取效率的影响

6.3 水相 pH 评估

文献报道，萃取 MVH 前应先将水相 pH 调至 7.0~7.5^[5-8]，本研究重点评估了水相 pH 值对萃取效率的影响。使用接触人群血红蛋白（MVH 约 300nmol/g Hb）制备 43 组样本（每组 2 个平行）。降解反应后，以 40%氢氧化钠溶液分别调节 pH 值至 1.6~11.4，加入 10mL 乙酸乙酯萃取后，继续处理，上机测定 MVH

峰面积，处理数据时对比有无内标校正的测定值。结果表明，内标校正值得在 pH 1.6~4.6 范围内、非内标校正值得在 pH 3.0~4.0 范围内稳定。鉴于 pH 1.6~2.8 时萃取液响应强度低，且不同实验室测量 pH 值有差异，选择较窄的 pH 范围有利于降低误差的影响，故选择将水相 pH 调至 3.0~4.0。萃取前可选择使用精密 pH 计（精度为 0.01）或精密 pH 试纸（精度为 0.1）测量以调节至最适 pH。

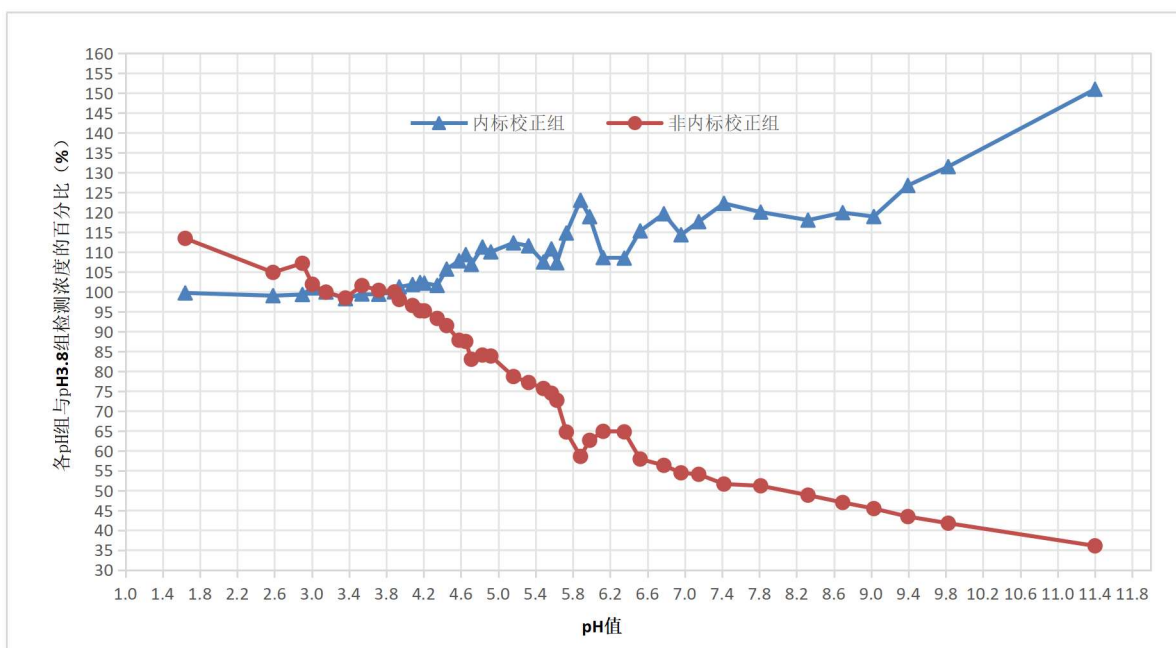


图 2-3 不同水相 pH 值对萃取效率的影响

6.4 萃取-浓缩-复溶后进样和萃取-直接进样比较

为提高有机样品检测的灵敏度，分析物的提取溶液通常需要浓缩-复溶后检测。常用的浓缩方式有氮吹浓缩和真空离心浓缩。文献报道^[5-8]，使用 10 mL 乙酸乙酯萃取 MVH，吸取 7 mL 萃取液后置于真空离心浓缩仪或氮吹浓缩至干，再以 1 mL 乙酸乙酯复溶后上机测定，此法步骤多、精密度差、耗时长。本项目组综合评估了真空离心浓缩、氮吹浓缩和萃取直接进样三种方式，在

分别优化至最佳条件后，发现两种萃取-浓缩-复溶方式提取效率仅 60%左右。而使用 2 mL 乙酸乙酯萃取后直接进样，提取效率达 73%~74%，且精密度更好，大幅缩短了操作时长，具有显著优势（表 2-4）。因此最终采用萃取直接进样。

萃取液乙酸乙酯含有少量水，会对气相色谱柱和质谱的 EI 离子源造成损伤，所以需使用无水硫酸钠对萃取液干燥。对无水硫酸钠用量考察后，结果表明每毫升乙酸乙酯加入 0.25 g~0.75 g 无水硫酸钠对检测结果没有显著影响，从便于操作的角度出发，最终选择每 1 mL 乙酸乙酯加入 0.25 g~0.5 g 无水硫酸钠。

表 2-4 萃取-真空离心浓缩、萃取-氮吹浓缩和萃取-直接进样比较

操作	耗时	精密度	提取效率
萃取-真空离心浓缩	5~6h	4.85%	53%~63%
萃取-氮吹浓缩	2~3h	1.22%	53%~60%
萃取-直接进样	0.5~0.6h	0.70%~1.18%	73%~74%

7 方法性能指标

7.1 工作曲线绘制及线性范围

血中的 *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物 (NMHb) 经前处理后仍有一定的基质效应，应使用工作曲线校准，以减少基体效应的影响，增加检测的准确性。本项目组系统研究了牛血红蛋白、牛血清白蛋白和人血红蛋白基质，发现 3 种基质的曲线斜率无差异。基于操作的简便性及获取成本等因素，最终选择以牛血清白蛋白为基质做工作曲线。内标可在一定程度上校正基质效应，同时可以校正仪器信号漂移，根据现有文献，检测 MVH 过程中曾经使

用过的内标为 MIH^[9, 10]，经评估，发现其效果较好。

取 10 mL 容量瓶，用超纯水将 MVH 标准储备液稀释，配制成浓度为 0.0, 5.0, 20.0, 50.0, 100.0, 200.0, 300.0 nmol/mL 的 MVH 标准系列后，各取 100 μ L 加入到盛有 100.0 mg 牛血清白蛋白粉末的 40 mL 样品瓶中，分别准确加入 100 μ L MIH 内标工作液和 5.0 mL 盐酸-冰醋酸溶液（2:1, V:V），其余同样品处理，配制 MVH 浓度为 0.0~15.0 nmol/mL 的 MVH 标准工作系列。将仪器调节至最佳测定状态，分别进样 1.0 μ L 测定。以标准工作系列溶液中 MVH 的含量为横坐标，以测得的 MVH 峰面积与内标 MIH 峰面积比值的平均值（n=3）为纵坐标，计算回归方程。得出 MVH 的回归方程为 $Y = 0.9991X + 0.0094$ ，浓度在 0.0~15.0 nmol/mL 范围内线性良好，相关系数 $R^2 > 0.999$ 。

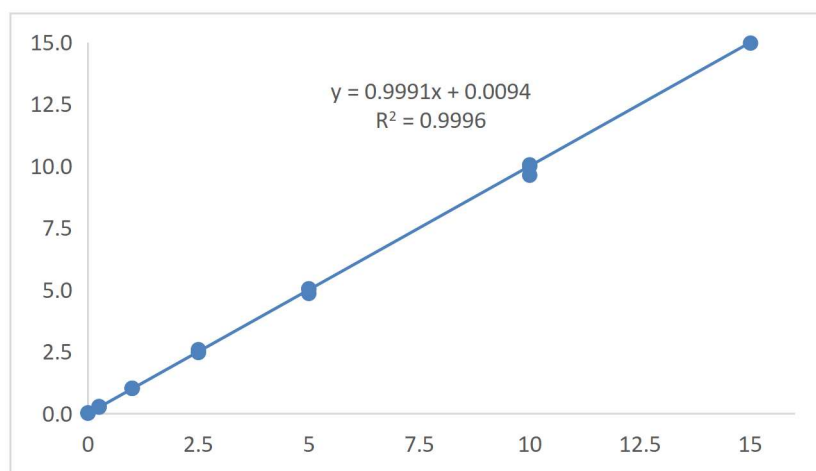


图 2-4 MVH 工作曲线

7.2 准确度实验

准确称取 100.0 mg 人血红蛋白粉末后分别加入低、中、高三个浓度水平的 MVH 标准溶液，使样本的加标浓度分别为 2.5,

5.0, 10.0nmol/mL。每个浓度组制备 6 个样品，样品经处理后进行测定，计算每个浓度组的平均加标回收率。结果表明，MVH 平均回收率范围为 93.21%-95.97%。（表 2-5）

表 2-5 加标回收率

加标量 (nmol/mL)	测定值 (nmol/mL)						RSD (%)	平均回收 率 (%)
	1	2	3	4	5	6		
本底	0.529	0.520	0.487	0.491	0.531	0.526	3.86	/
2.5	2.95	2.89	2.86	2.89	2.96	2.93	1.32	95.97
5.0	5.33	5.07	5.15	5.16	5.15	10.33	1.65	93.21
10.0	10.33	9.95	10.20	9.84	9.89	9.87	2.01	94.98

7.3 精密度实验

取 18 个样品瓶，其分为 3 组，每组 6 瓶，分别准确称取低、中、高三个浓度水平的 MVH（人为添加）牛血白蛋白粉末 100.0 mg，每个浓度组制备 6 个平行样品，样品经处理后，上机测定，进行批内精密度实验。另取 18 个样品瓶，其分为 3 组，每组 6 瓶，分别准确称取低、中、高三个浓度水平的 MVH（人为添加）牛血白蛋白粉末 100 mg，样品分 3 天进行处理、测定，每天处理 2 个，进行批间精密度实验。结果表明，批内精密度范围为 0.70%-1.18%，批间精密度范围为 0.97%-3.37%（表 2-6、2-7）。

表 2-6 批内精密度

加标 水平	测定值 (nmol/mL)						平均浓度 (nmol/mL)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
低	2.61	2.60	2.61	2.57	2.65	2.62	2.61	0.91
中	4.97	5.12	5.03	4.97	4.97	5.01	5.01	1.18
高	9.80	9.80	9.90	9.75	9.70	9.76	9.79	0.70

表 2-7 批间精密度

加标 水平	测定值 (nmol/mL)						平均浓度 (nmol/mL)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
低	2.73	2.49	2.73	2.67	2.68	2.68	2.66	3.37
中	5.25	5.24	5.21	5.14	5.18	5.10	5.19	1.14
高	10.20	10.14	9.98	10.22	10.22	10.24	10.17	0.97

7.4 检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ)

取 10 个样品瓶, 准确称取 100.0 mg 非职业接触人群血红蛋白, 人为加标后浓度约为 0.2 nmol/mL, 按研制的方法测定, 计算浓度平均值和标准差, 接近空白浓度溶液的测定值按照 GBZ/T 210.5—2008 中公式计算, 结果见表 2-8, 本法测量 MVH 检出限和定量下限分别为 0.072 nmol/mL (以 3 倍标准差计) 和 0.239 nmol/mL (以 10 倍标准差计), 以称量 100 mg 血红蛋白计, 检出限为 1.44 nmol/g Hb, 定量限为 4.78 nmol/g Hb。

表 2-8 检出限和定量限

测定浓度 (nmol/mL)	标准差 (nmol/mL)	检出限 (nmol/mL)	定量限 (nmol/mL)	检出限	定量限
				以 100 mg 血 红蛋白计 (nmol/g Hb)	以 100 mg 血 红蛋白计 (nmol/g Hb)
0.225、0.173、 0.214、0.170、 0.189、0.187、 0.168、0.219、 0.180、0.228	0.024	0.072	0.239	1.44	4.78

7.5 称样量范围

为考察本方法的称样量范围, 本项目组设置 6 组实验, 分别称取血红蛋白粉末 20 mg~150 mg, 处理后上机测定。实验结果

表明：以 MIH 为内标校准下，本方法称样量范围在 20 mg~150 mg 之间结果可靠。

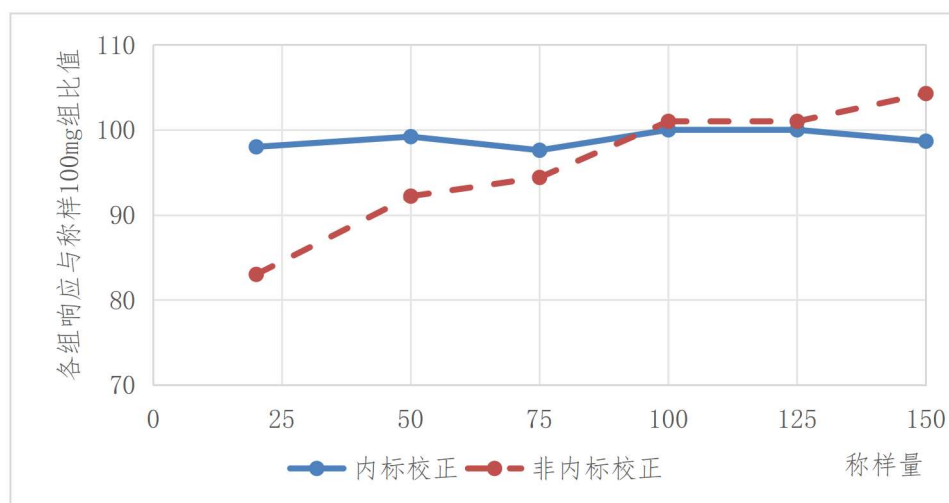


图 2-5 血红蛋白粉末称样量对比实验

7.6 干扰实验

根据二甲基甲酰胺（DMF）接触人员的现场资料及人体代谢情况，血液中可能存在的共存物主要有二苯基甲烷二异氰酸酯（MDI）、丁酮、3-羟基-2-丁酮、2,3-丁二醇及 4,4'-二氨基二苯基甲烷（MDA）等。依据 GBZ/T 210.5-2008 及 GBZ/T 295-2017 的要求，用甲醇为溶剂将以上干扰物制成 200 nmol/mL 的混标。取 2 个样品瓶，分别称取 100 mg 白蛋白后，准确加入 100 μ L 的 MVH 标准溶液(200 nmol/mL)和 MIH 标准溶液(200 nmol/mL)。一瓶加入 100 μ L 干扰物混标，另一瓶加入 100 μ L 甲醇，经处理后上机测定。发现 MVH 和内标 MIH 的定量和定性离子的特异性较好，各离子通道未见明显干扰（见表 2-9，图 2-6）。

表 2-9 干扰物对 MVH 和 MIH 的影响

实验组	MVH 响应	MIH 响应	MVH 峰面积 与内标峰面积比值
MVH+MIH	767140	407088	1.88
MVH+MIH+干扰物	724659	385974	1.88

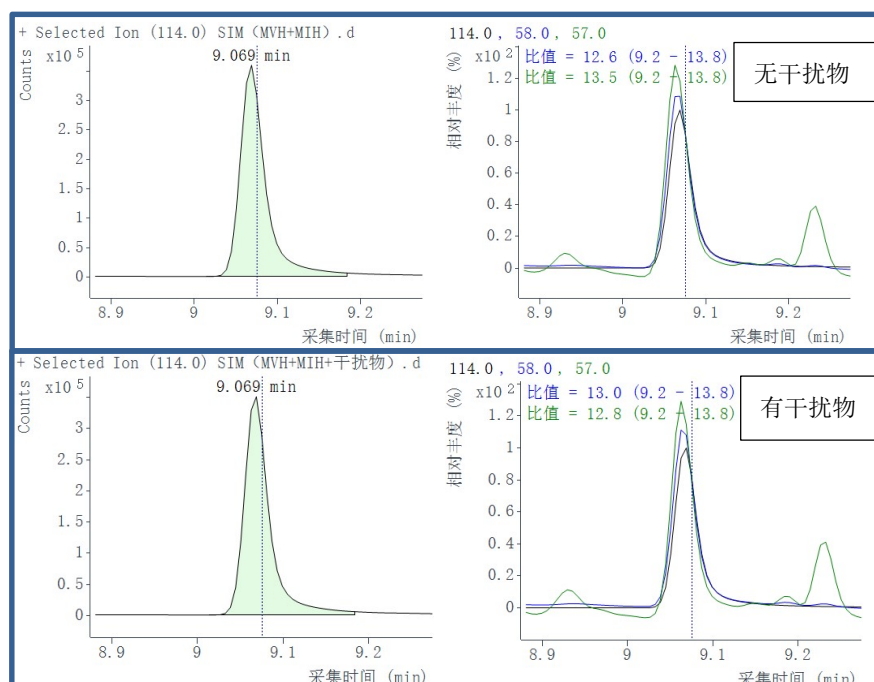


图 2-6 干扰物存在时离子通道干扰情况

7.7 稳定性实验

按 GBZ/T 210.5-2008 中样品稳定性试验的要求，以样品浓度下降率 $\leq 10\%$ 的天数为稳定时间。

7.7.1 人血红蛋白提取液的稳定性

制备职业接触人群血红蛋白提取混合液，分为 3 组，第 1 组当天制成血红蛋白粉未经处理后测定，第 2、3 组密封于 4℃ 保存，分别于第 3、7 天制成血红蛋白粉未经前处理后测定。实验结果表明，血红蛋白提取液在冷藏条件下可以保存 3 天，见表 2-10。

表 2-10 人血红蛋白提取液稳定性试验结果 (n=6)

4℃保存 时间	测定值 (nmol/mL)						平均浓度 (nmol/mL)	RSD (%)	下降率 (%)
当天	12.1	11.7	11.6	11.7	11.4	11.9	11.7	2.18	-
3 天	10.8	12.0	11.1	11.2	11.1	10.8	11.1	3.77	5.13
7 天	10.3	10.3	10.2	10.2	10.2	10.5	10.3	1.30	12.0

7.7.2 人血红蛋白粉末的稳定性实验

制备职业接触人群血红蛋白粉末, 分为 4 组, 其中 1 组当天处理后测定, 其余 3 组分别密封于 4℃、-20℃和-80℃下保存一定天数后测定。实验结果表明, 血红蛋白粉末在 4℃下可保存 14 天; 在-20℃下可保存 30 天; -80℃下可保存 60 天 (见表 2-11)。

表 2-11 人血红蛋白粉末稳定性试验结果 (n=6)

保存 时间	保存 条件	测定值 (nmol/mL)						平均浓度 (nmol/mL)	RSD (%)	下降率 (%)
当天	—	11.7	11.8	11.9	11.9	11.9	11.9	11.8	0.65	-
3 天		11.2	11.9	11.8	11.1	11.3	11.7	11.5	2.99	2.98
7 天	4℃	11.2	11.5	11.8	11.6	11.6	11.0	11.4	2.46	3.41
14 天		10.6	10.8	10.9	11.0	11.2	11.6	11.0	3.13	7.10
3 天		11.9	11.4	11.4	11.9	12.2	12.2	11.8	2.96	0.31
7 天		11.8	11.5	11.8	11.8	11.9	11.8	11.8	1.36	0.73
14 天	-20℃	11.5	11.9	11.3	11.9	11.4	11.6	11.6	2.03	2.14
30 天		11.4	11.2	10.7	11.2	11.1	11.0	11.1	2.21	6.33
14 天		11.6	11.4	11.7	11.7	12.2	11.9	11.7	2.44	0.86
30 天	-80℃	11.6	11.5	11.6	11.3	11.1	11.2	11.4	1.95	3.97
60 天		11.0	10.9	10.9	11.1	11.0	11.0	11.0	0.81	7.47

8 结论

根据《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》（GBZ/T 210.5-2008）和《职业人群生物监测方法 总则》（GBZ/T 295-2017）的要求，制订血中 *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物的测定气相色谱-质谱法，实验结果表明各项指标满足方法学要求。

三、验证分析、综述报告

（一）验证情况

经三家单位验证，本方法的检出限、定量限、准确度、精密度等指标满足标准 GBZ/T 210.5 的各项要求。具体验证结果见表 3-1。

表 3-1 各验证单位结果

验证单位	线性范围 (nmol/mL)	检出限 (nmol/mL)	定量下限 (nmol/mL)	批内精密 度 (%)	批间精密 度 (%)	回收率 (%)
1.无锡市第八人民医院	0~15	0.062	0.207	2.34~4.29	0.66~4.22	99.95~100.36
2.广东省职业病防治院	0~15	0.06	0.20	3.1~5.1	2.5~4.7	93.6~101.0
3.国家卫生健康委职业安全卫生研究中心	0~15	0.025	0.082	1.4~2.6	1.9~2.3	95.7~97.2
研制单位	0~15	0.072	0.239	0.70~1.18	0.97~3.37	93.21-95.97

（二）综述

不同单位验证结果与标准起草单位基本一致，综合起草单位和验证单位结果得出标准方法的技术参数如下：本法的检出限为 0.07 nmol/mL，定量下限为 0.24 nmol/mL，以称量 0.1 g 血红蛋白计，检出限为 1.4 nmol/g Hb，定量限为 4.8 nmol/g Hb。测定范围为 0.24~15.0 nmol/mL，以称量 0.1 g 血红蛋白计，测定范围为

4.78 nmol/g Hb~300 nmol/g Hb；批内精密度范围为 3.1%~5.1%，批间精密度范围为 2.5%~4.7%；加标回收率范围为 93.2%~101.0%；综合考虑结果和实际贮存便利性，样品在 4℃条件下可稳定保存 14 天，在-20℃条件下可稳定保存 30 天，在-80℃条件下可稳定保存 60 天。

四、与国际、国外同类标准技术内容对比情况

美国职业安全与卫生研究所（NIOSH）、职业安全与健康管理局（OSHA）、美国政府工业卫生学家协会（ACGIH）及其他国家均未建立血中 *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物的检测方法。

五、与相关规范性文件和其他标准的关系

本标准作为推荐性国家职业卫生标准，与《中华人民共和国职业病防治法》配套。本标准属于 GBZ/T 的生物标志物检测方法类，是 GBZ/T 2.1-2019 中的职业接触二甲基甲酰胺生物限值的配套检测方法。

六、征求意见和采纳意见情况、不采纳意见情况

（一）征求意见情况

1. 非委员意见：征求了**家单位和个人的意见，收到意见*份。

2. 卫生健康标准网征求意见：2026 年**月**日至**月**日在卫生健康标准网上公开征求意见。收到意见*份。

3. 委员意见：征求了**家单位委员和**委员意见，收到意见**份。

4. **条意见已经采纳，**意见未采纳。不采纳意见的理由见征求意见汇总表。

（二）重大意见分歧的处理结果和依据

无。

七、涉及专利的有关说明

无。

八、标准实施产生的效益和实施建议

本标准作为二甲基甲酰胺生物限值的配套检测方法，建立了血中 *N*-甲基氨甲酰血红蛋白加合物的气相色谱-质谱联用测定法，是控制和降低接触 DMF 人员的健康损伤有效的手段之一，结合工作场所中空气接触限值可以更好的保护劳动者的健康。

本标准建议发布后 6 个月实施。

九、强制性标准是否需要对外通报的建议和理由

无。

十、其他应予说明的事项

无。

参考文献：

- [1] J A, T G, A K, et al. N-methylcarbamoyl adducts at the N-terminal valine of globin in workers exposed to N,N-dimethylformamide.[J]. Archives of Toxicology, 1998,72(5): 309-313.
- [2] BADER M, LEWALTER J, ANGERER J. Analysis of N-alkylated amino acids in human hemoglobin: evidence for elevated N-methylvaline levels in smokers[J]. International Archives of Occupational & Environmental Health, 1995,67(4): 237-242.
- [3] J M, J C, V S, et al. N-Methylcarbamoyl-lysine adduct in globin: a new metabolic product and potential biomarker of N, N-dimethylformamide in humans.[J]. Toxicology Letters: An International Journal Providing a Forum for Original and Pertinent Contributions in Toxicology Research, 2006,162(2/3): 211-218.
- [4] MRÁZ J, Du KOVÁ Á, GÁLOVÁ E, et al. Improved gas chromatographic - mass spectrometric determination of the N -methylcarbamoyl adduct at the N-terminal valine of globin, a metabolic product of the solvent N , N -dimethylformamide[J]. Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences, 2002,778(1-2): 357-365.
- [5] 陈伟国, 阮征, 潘吉, 等. 二甲基甲酰胺职业接触者血中 *N*-甲基氨甲酰加合物的测定[J]. 浙江预防

- 医学, 2014,26(4): 334-339.
- [6] 刘强, 王春民, 李建, 等. 血液中 N-甲基氨甲酰加合物作为二甲基甲酰胺职业接触标志物可行性探讨[J]. 工业卫生与职业病, 2011,37(5): 282-286.
- [7] 王春民, 刘强, 李建, 等. 气相色谱-质谱法测定二甲基甲酰胺职业接触者血液中 N-甲基氨甲酰加合物[J]. 工业卫生与职业病, 2011,37(6): 381-383.
- [8] 陈伟国, 阮征, 徐承敏, 等. 血液中 N-甲基氨甲酰血红蛋白加合物作为二甲基甲酰胺接触生物标志的研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2014,32(5): 361-364.
- [9] 王春民, 刘强, 李建, 等. 超高效液相色谱-质谱联用技术快速检测二甲基甲酰胺职业接触者血红蛋白中新型生物标志物[J]. 分析化学, 2014(9): 1326-1331.
- [10] 刘强, 王春民, 杜志勇, 等. UPLC-MS 联用技术测定职业接触二甲基甲酰胺人群血液中 N-甲基氨甲酰加合物[J]. 工业卫生与职业病, 2017,43(5): 376-378.