

在高浓度多环芳烃环境中暴露后人尿中 1-羟基芘的变化*

赵振华 全文熠 田德海

(北京市环境保护科学研究所, 北京 100037)

张 全 生

(太原市环境卫生监测站, 太原 030012)

摘要 观察了人在高浓度多环芳烃环境中暴露后尿中 1-羟基芘的排出量, 并测定了空气中的多环芳烃浓度。结果表明, 人由空气中吸入芘后, 其代谢产物 1-羟基芘大部分在 24 小时内由尿中排出, 按克分子计算, 由尿中排出的 1-羟基芘为由空气吸入芘的 7—17%。

关键词 1-羟基芘, 多环芳烃。

尿中的 1-羟基芘是多环芳烃生物监测的一个有用指标^[1,2], 在职业环境^[3]、燃煤的城市^[4,5]和室内小煤炉采暖的环境中^[6], 用尿中 1-羟基芘作为人体接触环境中多环芳烃的指标都获得较好的结果。但是接触多环芳烃后尿中排出 1-羟基芘的时间与摄入芘的关系仅有动物实验结果^[7,8], 本文报告人在高浓度多环芳烃环境中暴露后尿中 1-羟基芘的排出情况。

一、实验设计

选三名在焦化厂焦炉顶作业区工作 8 小时后立即离开作业区的科研工作者, 从进入焦炉作业区前三天起开始, 直到离开作业区后第七天, 收集他们的全部尿样, 记录每次尿样的量 (ml 数), 分别进行尿中 1-羟基芘的测定。

(一) 空气中多环芳烃的分析

1. 采样设备

个体采样器为江苏建湖电子仪器厂生产的 TMP-1500 个体采样器, 采样头在玻璃纤维滤法的 50%。

3. 限于条件, 本法只对文中所列废水进行了试验, 而对其它性质废水的适用情况尚未试验。此外, 本方法是一种新的 COD 测定法, 还有不足之处, 有待进一步研究完善。

致谢 91 届毕业生马琳、李晨参加了部分实验工作。

表 1 被观察者情况

被观察者	性别	年龄	吸烟量	职 业
Q. U. Zhan	男	46	不吸烟	科研工作者
G. I. Zhan	男	27	10 支/日	同上
S. T. Sung	男	25	10 支/日	同上

膜 ($\phi 33$ mm) 的后面装填有聚氨酯泡沫 (PUFP, $\phi 33 \times 10$ mm), 用以收集气相的多环芳烃化合物^[9]。玻璃纤维滤膜为上海红光造纸厂生产的“49”型超细玻璃纤维滤膜, 用前经高温 (500℃) 烘 2h, 再于湿度 < 50% 的天平室中平衡 24h 后备用。PUFP 用前经水、环己烷和甲醇反复洗至无荧光物质后使用。

定点采样器为青岛崂山电子仪器实验所生产的 KCQ 型可吸入尘采样器, 组装有和个体采样器类似的 PUFP 附件 ($\phi 51$ mm $\times$ 10 mm), 玻璃纤维滤膜和 PUFP 的处理同上。

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1991 年 4 月 25 日

参 考 文 献

- 1 Wilson R F. C. A., 1978, 88:41460K
- 2 张萃民等. 环境化学. 1989, 8(2): 62
- 3 胡国强等. 环境科学. 1989, 10(6): 48
- 4 Ballinger D. Analyst. 1982, 107: 1047
- 5 环境监测分析方法编写组. 环境监测分析方法. 北京: 中国环境科学出版社, 1986: 153
- 6 尹浩等. 上海环境科学. 1985, 4(7): 32

2. 采样设计

选两名被观察者,各自携带一台个体采样器,分别采集他们进入焦炉作业区前、在焦炉停留期间和离开焦炉后的样品。二者平时所在地为太原市环境卫生监测站实验楼内,作业环境为太原钢铁公司焦化厂4号焦炉平台的加煤和出焦岗位。

定点采样器用于采集太原市环境卫生监测站实验楼内的样品

3. 样品的提取与分离

(1) 气相多环芳烃的提取 采好样的 PUF 用甲醇提取三次,前两次在注射器中反复抽提半小时,第三次提取 5min,合并提取液,60℃下浓缩,定容后进行 HPLC 测定。

(2) 颗粒物上多环芳烃的提取与分离 采好样的玻璃纤维滤膜在天平室中平衡后,记录颗粒物重量与采样体积,用环己烷在索氏提取器中提取 10h(90℃),减压浓缩,用 SEP-PAK 硅胶柱进行预处理,定容后进行 HPLC 分析。

4. 反相高压液相色谱测定

(1) 仪器与试剂 日立-638 型高压液相色谱仪,650-10LC 型荧光检测器,ODS-Zorbax 反相色谱柱 (4.6 × 150mm),岛津 C-RIA 色谱数据处理机,甲醇为上海吴径化工厂生产的 HPLC 试剂。芘的标样为进口分装。苯并(a)芘为北京市环境监测中心研制的标样。

(2) 色谱条件 柱温为室温,梯度洗脱: B 组分为 100% 甲醇, C 组分为 75% 甲醇和 25% 水,开始时 C 组分为 100%,至 20min 时改变为 B 组分 100%,保持 30min。流量 0.5ml/min。

外标法定量,本测量只对芘和 BaP 进行定量。荧光检测器的测定波长见表 2。

表 2 测定波长与检出限

化合物	激发波长 λ_{ex} (nm)	发射波长 λ_{em} (nm)	最小检出限 (ng)
芘	320	380	0.70
苯并(a)芘	296	404	0.07

计算方法:

$$PAH \text{ (ng/m}^3\text{)} = \frac{R_f \cdot A \cdot V_1}{V_2 \cdot V_3}$$

式中, PAH 为大气中被测 PAH 浓度;

A 为被测化合物色谱峰面积;

R_f 为标样的响应因子 (ng/单位面积);

V_1 为样品前处理后定容体积 (μ l);

V_2 为进样体积 (μ l);

V_3 为大气采样体积 (m^3)。

(二) 尿中 1-羟基芘的测定

尿中 1-羟基芘分析的基本原理和步骤按文献[10]的方法进行。

1. 尿样的预处理

取 10ml 尿样,加入 5ml 0.5mol/L 醋酸盐缓冲液,内含 800 单位的 B-葡萄糖苷酸酯/芳基硫酸酯酶(H-1 型,美国 Sigma 公司产品),37℃下保温 1h,水解后的尿样用 SEP-PAK 柱(Waters 公司产品)富集分离,用甲醇洗脱后在 60℃下浓缩至 100 ml,用 HPLC 分析尿中 1-羟基芘含量。

2. 反相 HPLC 分析

仪器为日立 638-50 型高压液相色谱仪,650-10 LC 型荧光检测器,色谱柱为 Varian Micro Pak MCH-5 (0.25 × 150mm) 反相柱,梯度淋洗,流动相 A 为 60% 水,40% 甲醇;流动相 B 为 100% 甲醇。前 5min 为 90% A,至 10min 时改变为 90% B,再保持 15min,流量为 0.5ml/min,1-羟基芘的保留时间约为 27min,外标法峰面积定量。

二、结果与分析

(一) 尿中 1-羟基芘的测定结果

1. 被观察者吸入高浓度的多环芳烃后,尿中的 1-羟基芘浓度很快极显著地增高

三名被观察者均在焦炉作业区停留八小时,从开始进入作业区的时间计算,QUZ 尿中的 1-羟基芘浓度在第 5 至 13 小时的尿中达到 48.30ng/ml,第 14 小时后尿中的 1-羟基芘迅速下降至 0.21ng/ml,QUZ 在进入焦炉作业区前后的其它 24 份尿样中,1-羟基芘浓度的范围是 0—4.19ng/ml,均值为 0.87ng/ml,标准偏

差为 1.16。图 1 为 QUZ 进入焦炉区前后和在焦炉区时样品的 HPLC 色谱图。

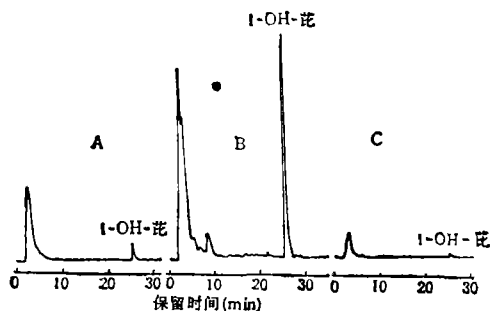


图 1 被观察者 QUZ 尿样的 HPLC 色谱图

A 为进入焦炉作业区前的尿样 B 为进入焦炉作业区 6h 的尿样 C 为离开焦炉作业区 6h 的尿样

STS 进入焦炉作业区后第 10 小时尿中的 1-羟基芘达 22.60ng/ml, 为进入焦炉区前的 10 倍, 第 16 小时尿中的 1-羟基芘升至 36.70ng/ml, 第 24 小时后 1-羟基芘下降至 3.34ng/ml, 其余 38 份尿样中 1-羟基芘的浓度范围是 0—9.05ng/ml, 均值为 3.48ng/ml, 标准偏差 2.74。

GIZ 尿中 1-羟基芘出现高峰的时间是进入焦炉作业区后第 5 小时至第 24 小时, 浓度达 11.7ng/ml, 其余 37 份样品中 1-羟基芘的浓度范围是 0—5.4ng/ml, 均值为 2.13ng/ml, 标准偏差为 1.54。

上述三人进入焦炉作业区后尿中的 1-羟基芘浓度分别较平时增加了 55.10 和 5 倍以上。

2. 尿中 1-羟基芘的排出总量

根据测得的尿中 1-羟基芘的浓度和尿量计算被观察者在不同时间排出的 1-羟基芘量 (ng)、以 1-羟基芘的 μg 数为纵坐标, 收取尿样的时间为横坐标作图, 分别绘制三人不同时间尿中排出的 1-羟基芘量, 获得了类似的结果, 图 2 为 STS 的结果。

由这些结果可以看出, QUZ 进入焦炉作业区后九小时内排出的 1-羟基芘 (11.11 μg) 比其余七天时间内排出的 1-羟基芘总量 (9.77 μg) 还要多出 1.34 μg 。其余两人也有类似情况, 即进入焦炉作业区的短时间内, 集中排出大量的

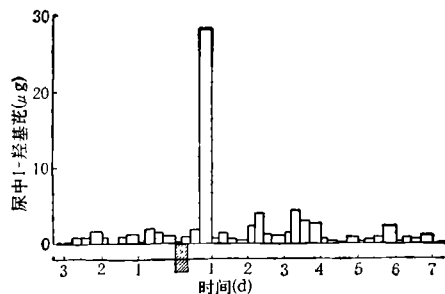


图 2 STS 不同时间尿中排出的 1-OH-芘量
横坐标阴影区为在焦炉停留时间

1-羟基芘, 三人排出 1-羟基芘的峰值时间都在进入焦炉作业区后的 24 小时内。若以每天排出 1-羟基芘的总量计算, 三人在受试期排出的 1-羟基芘列入表 3 中。

上述实验结果说明, 人吸入高浓度的多环芳烃后, 其代表化合物芘的代谢产物 1-羟基芘大部分在 24h 内由尿中排出, 此后还可能存在一次小的排出峰值, 表现在 STS 的第三天, GIZ 的第四天和 QUZ 的第五天 (见表 3), 这有待进一步的实验确证。

除去在焦炉作业区当天的数据不计, 被观察者每天由尿中排出的 1-羟基芘的均值, 两名吸烟者分别为 4.68 μg ($n=9$, S.D. = 3.11) 和 2.16 μg ($n=9$, S.D. = 0.95), 不吸烟者为 1.19 μg ($n=7$, S.D. = 0.72)。

(二) 空气样品中多环芳烃的测定结果

本测定方法可将主要的母体多环芳烃化合物灵敏特异地测出, 结果表明, 四环以下的多环芳烃主要集中在气相部分, 绝大多数五环以上的多环芳烃则主要集中在颗粒物上, 图 3 为一个样品的气相和颗粒物上多环芳烃的色谱图。

上部为气相样, 下部为颗粒物样, 对样品中的芘和苯并 (a) 芘 (BaP) 进行定量测定, 以气相和颗粒物上测得值的总和计, 求得样品中全态芘和 BaP 的浓度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), 结果列于表 4 中。

由上述结果可以看出, 焦炉作业区空气中多环芳烃的浓度较被观察者平时所在环境中的浓度高出 2—3 个数量级。从表 4 的数据还可以

表 3 三名被观察者尿中排出的 1-OH-芘量 ($\mu\text{g}/\text{d}$)

被观察者	进入焦炉区前时间 (d)			在焦炉区	离开焦炉区后时间 (d)					
	3	2	1		1	2	3	4	5	6
STS	3.42	3.20	4.43	30.63	3.33	8.38	11.33	1.73	3.75	2.59
GIZ	1.18	1.81	1.29	8.18	3.67	2.06	2.91	3.52	1.60	1.41
QUZ	未作	未作	1.74	12.56	1.08	0.71	0.01	1.67	2.14	0.97

表 4 空气样品中全态芘与 BaP 的浓度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

样 品	采样时间与环境	芘($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	BaP($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
STS 的个体 采样器	进入焦炉前工作区	0.34	0.05
	在焦炉作业区	142.32	20.08
	离开焦炉后工作区	1.22	0.14
GIZ 的个体 采样器	进入焦炉前工作区	0.99	0.09
	在焦炉作业区	63.45	7.01
	离开焦炉后工作区	0.35	0.05
环境 固定采 样器	进入焦炉前环境	0.10	0.03
	离开焦炉后环境	0.12	0.02

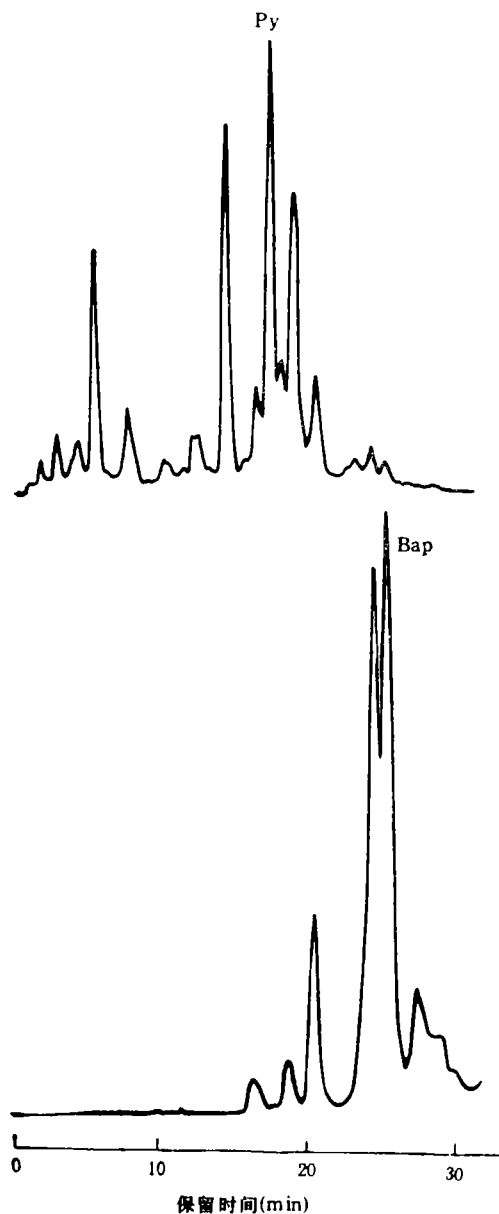


图 3 STS 在焦炉区时个体采样器样品的 HPLC 图

看出,在一般环境空气中多环芳烃的浓度变化不大,而在焦炉作业区因作业人所在位置不同,

因而个体采样器样品中多环芳烃的浓度变化亦较大。

(三) 人吸入芘与由尿中排出 1-羟基芘关系的估算

进入人体的芘有三个途径:吸入、经口摄入和皮肤吸收,在本研究中皮肤吸收可以忽略不计,经口摄入的食物和饮料大致类似,所以尿中 1-羟基芘的变化主要由吸入因素所致,在吸入因素中主要为空气污染和吸烟。

根据文献[11]中对“参比人”吸入空气速率的数据,成年男性在休息时吸入空气的速率为 $7.5\text{L}/\text{min}$,轻度劳动时为 $20.0\text{L}/\text{min}$ 计算,本研究的被观察者在焦炉作业区时不参加劳动,把八小时停留期吸入空气的量估算为 5m^3 ,按照个体采样器中测得芘的浓度计算,STS 和 GIZ 在焦炉区吸入的芘分别是 $711.60\mu\text{g}$ 和 $317.25\mu\text{g}$ 。

若按照人从空气中吸收污染物的公式^[12]:
吸收量 (μg) = $20\% \times$ 吸入空气量 (m^3) $\times$ 污染物总浓度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) 计算,则 STS 和 GIZ 吸收芘的量分别是 $142.32\mu\text{g}$ 和 $63.45\mu\text{g}$ 。

根据香烟烟雾中芘的数据^[13],每天吸 10 支

的人可摄入 0.5—2.5 μg 的芘,与在焦炉区期间吸入的量微不足道,可忽略不计。QUZ 未携带个体采样器,但与 STS 所在位置大致相似,故吸入量按 STS 的计。

根据上述结果,把被观察者在焦炉区因吸入空气中的芘和 24h 内由尿中排出的 1-羟基芘按微克分子计算,得出芘由尿中的排出率,如表 5 所示。吸入芘由尿中的排出率为 7—17%。

表 5 被观察者在焦炉区吸收的芘和尿中排出的 1-羟基芘

被观察者	由空气中吸收的芘(μmol) ¹⁾	由尿中排出的 1-OH-芘(μmol) ²⁾	排出率 (%)
GIZ	0.314	0.028	8.9
STS	0.705	0.119	16.9
QUZ	0.705	0.052	7.4

1) 根据被观察者携带个体采样器中芘的浓度,按正文中所述人体吸收公式计算

2) 由被观察者进入焦炉区后 24h 内排出的 1-OH-芘减去平时 24h 尿中 1-OH-芘的均值计算

被观察者平时由空气中吸入的芘(包括吸烟烟雾中的芘)和由尿中排出的 1-羟基芘的数据如表 6 所示。

表 6 被观察者每日吸入的芘与由尿中排出的 1-羟基芘

被观察者	由空气中吸收的芘(μmol)	由尿中排出的 1-OH-芘(μmol)	排出率 (%)
GIZ	0.037 ¹⁾	0.010 (0.0086) ²⁾	27.0 (23.2)
STS	0.041 ¹⁾	0.021 (0.018)	51.2 (43.1)
QUZ	0.0054 ¹⁾	0.0050 (0.0041)	92.6 (75.9)

1) 由个体采样器中芘的浓度,按照文中公式计算出每日的吸收量,再加因吸烟(10 支/日)每日所摄入的芘

2) 由环境中固定采样器的浓度计算不吸烟者

3) 除去被观察者在焦炉作业区当天尿中 1-OH-芘的数,按其它观察期间尿中排出 1-OH-芘的均值计

4) 括号内的数据是去掉离开焦炉后出现的第二次排出峰值后的均值

由表 6 的结果可以看出,尿中排出的 1-羟基芘大大的超过了表 5 中的排出率,这说明平时由尿中排出的 1-羟基芘,除了由空气中吸入的因素外,很大一部分(26—70%)来自饮食。

(四) 讨论

1. 人由空气中吸入芘后,其代谢产物 1-羟基芘大部分在 24h 内由尿中排出,在此后的 3—5 天内还可能存在一次较小的排出峰值。这与我们用肌肉注射的方法给狗注入芘后,尿中排出的 1-羟基芘以第 24 至 48h 为最高^[8],大白鼠口服芘后尿中排出的 1-羟基芘以第 24h 为最高相一致^[7]。本研究证实人吸入芘后尿中排出的 1-羟基芘在第 4—20h 内即可达到峰值。因此用尿中 1-羟基芘作为多环芳烃的生物监测指标,它所反映的是人在 24h 内吸入空气中芘的结果。

2. 大白鼠口服芘后尿中 1-羟基芘的排出率为 1.85%(由文献[7]数据按克分子计算);狗肌肉注射后尿中 1-羟基芘的排出率为 0.04—0.06%。本研究说明人吸入芘后尿中 1-羟基芘的排出率可高达 7—17%。而平时尿中排出的 1-羟基芘很大一部分又来自非吸入因素,这是 1-羟基芘能在人尿中检出的重要原因。在饮食情况类似的情况下,由空气中多环芳烃污染所吸入的芘就可由尿中的 1-羟基芘快速、灵敏地反映出来。

参 考 文 献

- 1 Jongeneelen F J et al. *Scand. J. Work Environ. Health*. 1986, 12: 137
- 2 赵振华等. 环境科学学报. 1988, 8(4): 438
- 3 Jongeneelen F J et al. *Ann Occup. Hyg.* 1988, 32(1): 35
- 4 Zhen-Hua Zhao et al. *Sci. Total Environ.*, 1990, 92:145
- 5 赵振华等. 环境化学. 1990, 9(5): 12
- 6 赵振华等. 环境科学. 1990, 11(2): 8
- 7 Jongeneelen F J et al. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 1985, 57: 47
- 8 赵振华等. 环境科学. 1990, 11(6): 14
- 9 Hiroyasu Yamasaki et al. *Environ. Sci. Technol.*, 1982, 16(4): 189
- 10 赵振华等. 中国环境监测. 1990, 6(4): 37
- 11 Snyder W S. *Report of the Task Group on Reference Man*(ICRP No. 23) Pergamon. New York: 1975: 16
- 12 Cauwenberghe K V et al. *Mutation Res.* 1983 116(1): 1
- 13 International agency for research on cancer polynuclear aromatic compounds: Part 1. *Environmental and experimental data* (IARC Monograph Vol. 32) Lyon. 1983: 8