

文章编号 :1001-5914(2010)07-0608-03

# 我国南方某幼儿园儿童萘内暴露水平研究

岳强<sup>1,2</sup>, 范瑞芳<sup>3</sup>, 于志强<sup>1</sup>, 盛国英<sup>1</sup>, 傅家谟<sup>1</sup>

**摘要** :目的 以羟基萘作为生物标志物,了解幼儿园儿童萘的内暴露水平。方法 于 2007 年 11 月采集我国南方某市幼儿园 4~6 岁儿童尿样。尿液经过酶解、固相萃取(SPE)富集、净化,采用高效液相色谱-荧光检测器检测 2-羟基萘浓度。结合问卷调查,分析尿中羟基萘浓度的影响因素。结果 所有尿样均检出 2-羟基萘和 1-羟基萘。2-羟基萘含量为 2.33~50.4  $\mu\text{mol/mol Cr}$ ,中位数为 7.30  $\mu\text{mol/mol Cr}$ 。尿中 1-羟基萘与 2-羟基萘浓度呈正相关( $r=0.328, P<0.01$ ),而个体差异、是否被动吸烟和饮食均不会对儿童尿中 2-羟基萘浓度产生显著影响。结论 本次调查的儿童尿 2-羟基萘浓度较高,可能与居住和生活环境的萘暴露有关。

**关键词** :多环芳烃 ;羟基萘 ;生物标志 ;高效液相色谱 ;尿液

中国分类号 :R181.3

文献标志码 :A

**Study on Exposure Level of Naphthalene among Children in a Kindergarten in a City in South China** YUE Qiang, FAN Rui-fang, YU Zhi-qiang, et al. *State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640, China*

**Corresponding author:** YU Zhi-qiang, E-mail: zhiqiang@gig.ac.cn

**Abstract:Objective** To explore the exposure level of naphthalene among children in kindergarten. **Methods** The urine samples were collected from children aged 4~6 years in a kindergarten in a city in South China in November, 2007. After enzymic hydrolysis, the urine samples were pre-concentrated and cleaned up by solid phase extraction, and then the urinary hydroxyl-naphthalenes and 1-hydroxypyrene were determined by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. The levels of 2-naphthol in urine samples were developed to analyze the influence of some factors. **Results** 2-naphthol and 1-hydroxypyrene were detected in all urine samples. The concentration of 2-naphthol ranged from 2.33 to 50.4  $\mu\text{mol/mol creatinine}$ , and median of concentration was 7.30  $\mu\text{mol/mol creatinine}$ . There was a positive correlation between the levels of 2-naphthol and 1-hydroxypyrene in urine samples ( $r=0.328, P<0.01$ ). The differences of concentration of 2-naphthol in urine were not significant among individuals, and passive smoking, food and drink were not the significant influencing factors. **Conclusion** The concentrations of urinary 2-naphthol among the investigated children in kindergarten are higher, and may be involved in exposure to naphthol in living and inhabiting environment.

**Key words:** Polycyclic aromatic hydrocarbons ;Naphthol ;Biomarker ;High performance liquid chromatography ;Urine

美国疾病控制中心的研究表明儿童是多环芳烃 (PAHs) 的高暴露人群<sup>[1]</sup>。一些重要的儿童疾病如哮喘、神经发育障碍、免疫功能低下等可能与 PAHs 的暴露有关<sup>[2]</sup>。萘是挥发性很高的 PAHs, 主要来源于煤炭、石油等的热解, 其使用也极为广泛, 如作为制备染料、树脂和家庭用卫生球的原料。无论是职业暴露还是非职业暴露, 不仅环境萘的浓度水平平均高于其他 PAHs, 而且在人体尿液中总 PAHs 羟基代谢物中也占很大比例<sup>[3]</sup>。以往普遍认为只有四环或更多环的 PAHs 才具有致癌性, 而两环的萘被认为是非致癌的, 但研究表明, 即使在 50  $\text{mg/m}^3$  的暴露水平下, 都能显著增加实验动物呼吸道上皮组织肿瘤的发生率。一些国家或国际机构[如国际癌症研究机构(IARC)、德国研究联合会(DFG)、美国环保局(EPA)]近年来已经将萘列为潜在的致癌物质<sup>[4]</sup>。环境萘对人体的潜在影响引起重视, 但目前国内外涉及儿童萘内暴露的文献还较少。本研究以南方某市一幼儿园 80 名 4~6 岁儿童作为受试对象, 通过检测萘在体内的羟基代谢物来评价该人群萘的内暴露水平, 并对 1-羟基萘(1-HOP)与羟基萘

基金项目 :中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX2-YW-403)  
作者单位 :1.中国科学院广州地球化学研究所有机地球化学国家重点实验室(广东 广州 510640) 2.韶关学院英东生物工程学院(广东 韶关 512005);3.华南师范大学生命科学院(广东 广州 510631)

作者简介 :岳强(1968-),男,副教授,博士,从事环境污染物对人体健康影响的研究。

通讯作者 :于志强, Tel: (020)85292391; E-mail: zhiqiang@gig.ac.cn

之间的相关性以及可能影响受试儿童萘内暴露水平的因素进行了探讨。

## 1 内容与与方法

### 1.1 尿样

于 2007 年 11 月,在南方某市市中心一幼儿园采集 4~6 岁儿童晨尿 20 ml, 共计 80 人。该幼儿园为非全托式幼儿园。请所有受试儿童家长填写问卷调查表,内容包括性别、身高、体重、饮食习惯、是否被动吸烟、每天交通所需时间等。

### 1.2 主要仪器与试剂

HP1100 型高效液相色谱仪、荧光检测器(美国 Agilent 公司), Agilen Zorbax SB-C18 液相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5.0  $\mu\text{m}$ ), 固相萃取装置(美国 Supelco 公司), 固相萃取 visiprep™ 小柱(C<sub>18</sub> ENVI, 美国 Supelco 公司), 氮吹仪(美国 Pierce 公司), 2-羟基萘(2-HON)、1-HOP 标准品(美国 Sigma 公司), 色谱纯甲醇等有机溶剂(德国 Merck 公司), 二次蒸馏水,  $\beta$ -葡萄糖苷酸-芳基硫酸酯酶(每毫升中含 122 400 单位  $\beta$ -葡萄糖苷酸酯酶和 3 610 单位芳基硫酸酯酶, 美国 Sigma 公司)。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 尿样的前处理** 尿肌酐(Cr)值的测定及尿样的前处理过程按文献[5]进行, 所测尿液中目标化合物浓度均以肌酐值校正。

**1.3.2 高效液相色谱条件** 进样量为 10 μl 流量 0.6 ml/min ;采用甲醇-水梯度洗脱。流动相切换程序 0~5 min ,甲醇 60% ;5~14 min ,甲醇 60%~78% ;14~21 min ,甲醇 78%~85% ;21~30 min ,甲醇 85%~100% ;30~35 min ,甲醇 100% ;35~39 min ,甲醇 60%~100% ;39~45 min ,甲醇 60%。荧光激发波长(Ex)/发射波长(Em)切换的时间程序 0 min ,Ex 227 nm ,Em 355 nm ;23~45 min ,Ex : 239 nm ,Em 392 nm。

**1.4 质量控制**

2-HON 和 1-HOP 的测定方法在给定的浓度范围内均呈现良好的线性关系 ,其中 2-HON  $y=0.172x+0.393$   $r^2=1.000$  检出限(LOD) 为 0.828 μg/L ;1-HOP  $y=0.1025x+0.6669$   $r^2=0.999$  LOD 为 0.234 μg/L。采用基质加标测定回收率 ,其中 2-HON、1-HOP 50 μg/L 的加标平均回收率分别为 88%和 83% ,10 μg/L 的分别为 91%和 75%。样品前处理过程中 ,每 6 个样品用 1 个基质加标样品进行质控 ;HPLC 仪器分析过程中 ,每检测 10 个样品则检测一个混合标样。

**1.5 统计方法**

使用 SPSS 13.0 软件进行数据分析。尿液中 2-HON 和 1-HOP 的含量呈非正态分布 ,两者之间的相关性分析采用 Spearman 函数 ;采用 Mann-Whitney U 检验分析受试人群基本特征和生理特征指标以及尿羟基萘浓度受性别、身高、体重、被动吸烟和饮食习惯等影响 , $P<0.05$  有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 一般情况**

80 名儿童中有男童 47 名 ,女童 33 名。其中男童平均年龄为(5.0±0.78)岁 ,平均身高(110.3±7.1)cm ,平均体重(19.3±4.68)kg ,平均尿肌酐浓度(5.8±2.6)mmol/L ;女童平均年龄为(5.0±0.8)岁 ,平均身高(109.7±6.0)cm ,平均体重(18.4±3.1)kg ,平均尿肌酐浓度(5.5±5.6)mmol/L。男童和女童上述生理指标差异无统计学意义。

**2.2 儿童尿液中 2-HON 和 1-HOP 含量及相关性分析**

所有样品均检测出 2-HON 和 1-HOP(表 1)。检出的 2-HON 的中位值高过 1-HOP 一个数量级 ,而 2-HON、1-HOP 的  $P_{95}$  分别是  $P_{50}$  的 4.3 倍和 2.8 倍 ,反映了上述两种目标化合物在受试人群尿液中的浓度分布较为集中。Spearman 分析结果显示 ,受试人群尿液中的 2-HON 与 1-HOP 存在一定的浓度相关性 ,但相关系数仅为 0.328( $P<0.01$ )。

表 1 儿童尿液中 2-HON 和 1-HOP 的含量 (μmol/mol Cr)

化合物	检出率(%)	范围	$\bar{x}\pm s$	$P_{50}$	$P_{95}$
2-OHN	100	2.33~50.4	10.21±8.95	7.30	31.07
1-OHP	100	0.10~1.64	0.45±0.29	0.38	1.06

**2.3 被动吸烟、个体间差异和饮食对尿中 2-HON 浓度水平的影响**

虽然本研究被动吸烟组的 2-HON 中位值 (8.16 μmol/mol Cr) 高于非被动吸烟组(7.17 μmol/mol Cr) ,但 Mann-Whitney U 检验显示两者差异无统计学意义(表 2)。因此 ,在后续的数据统计分析中 ,不再将这 80 名幼儿园儿童分为被动吸烟和非被动吸烟两个部分。

以调查表相关数据的统计中值为界 ,按年龄(≤5 岁、>5 岁)、身高(110 cm ≤ >110 cm) 体重(≤18 kg、>18 kg)、每日上幼儿园所需交通时间(≤30 min、>30 min)和近期是否食用过油炸食

品等分组 ,采用 Mann-Whitney U 检验分析 ,以进一步了解该受试人群尿液 2-HON 浓度可能的影响因素。结果显示上述所有分组 ,组间 2-HON 浓度差异均无统计学意义。表明被动吸烟、饮食等因素尚不足以对该受试人群尿液中 2-HON 的浓度产生明显影响 ,而居住和生活的环境可能是影响其 PAHs 内暴露水平的重要因素。

表 2 被动吸烟、个体间差异和饮食对儿童尿中

因素	2-HON 水平的影响 (μmol/mol Cr)				P 值
	类别	人数	范围	M	
被动吸烟吸烟	是	26	3.22~50.45	8.16	0.504
	否	54	2.33~38.29	7.17	
年龄	≤5 岁	51	2.33~38.29	7.25	0.956
	>5 岁	29	2.63~50.45	8.00	
性别	男	47	2.50~50.45	7.34	0.845
	女	33	2.33~38.29	7.08	
身高	≤110 cm	51	2.33~50.45	7.25	0.696
	>110 cm	29	2.63~31.28	7.34	
体重	≤18 kg	40	2.33~50.45	7.25	0.942
	>18 kg	40	2.93~38.12	7.30	
交通时间	≤30 min	65	2.33~50.45	7.60	0.281
	>30 min	15	3.38~31.28	7.64	
三天内曾食用油炸食品	是	11	3.91~31.28	8.00	0.745
	否	69	2.33~50.45	7.25	

**3 讨论**

**3.1 尿液中 1-HOP 与 2-HON 浓度之间的相关性**

进入体内的萘有 6.3%~8.5%以单羟基萘的形式排出体外。由于 1-HON 的荧光响应较弱 ,加之 2-HON 浓度约占总单羟基萘的 80% ,因此 ,采用 HPLC-FLD 方法较难同时检测出 1-HON 和 2-HON。但 2-HON 与总单羟基萘之间具有显著的浓度相关性( $r=0.978$ )<sup>[3,6]</sup> 2-HON 仍可用于指示萘的内暴露水平。

虽然本研究( $r=0.328$ )与其他文献都显示人体尿液 1-HOP 与 2-HON 浓度存在一定的相关性( $r=0.494$ )<sup>[6]</sup> ,但本课题组之前的研究显示 1-HOP 与 2-HON 的浓度相关系数仅为 0.264<sup>[7]</sup> ,这反映了人体环境萘暴露途径和来源的复杂性。由于 2-HON 占尿液总 HO-PAHs 浓度的 60%左右<sup>[7]</sup> ,1-HOP 的浓度不一定可以完全反映萘的内暴露水平。

不同环数的 PAHs 进入体内后 ,因其结构和分子量的不同 ,导致不同 PAHs 在体内具有不同的吸收效率、生物利用率和代谢途径 ,最终在对生物体实际内暴露水平的影响上 ,不同的 PAHs 具有一定的差异。对一般人群而言 ,饮食和呼吸是 PAHs 暴露的主要途径。Preuss 等<sup>[8]</sup>在对一般人群 PAHs 摄入途径和摄入量的研究显示 ,呼吸是一般人群主要的摄入途径 ,远高于食物摄入途径 ,而且儿童 PAHs 日摄入量[4.5 μg/(kg·d)]远大于成人[1.1 μg/(kg·d)]。但李新荣等<sup>[9]</sup>研究显示 ,一般人群的 PAHs 暴露以膳食途径为主 ,即膳食途径约占日均 PAHs 暴露量的 75% ,通过呼吸途径的 PAHs 暴露量约占日均 PAHs 暴露量的 20% ,皮肤接触途径约占日均 PAHs 暴露量的 5% ,而且 0~6 岁儿童 PAHs 的日暴露量 [4.3 μg/(kg·d)] 大于 6~18 岁的青少年[3.8 μg/(kg·d)]和成人[3.1 μg/(kg·d)]。

上述通过外暴露水平的研究结果显示 ,虽然一般人群 PAHs 摄入的主要来源和暴露途径有所不同 ,但都表明儿童是 PAHs 的高暴露人群。此外 ,研究显示 ,进入食道的苈有 75%可

被吸收<sup>[10]</sup>,而尿中 1-HOP 仅占体内总浓度的 1%~2%;且低环的 PAHs 羟基代谢物主要通过尿液排泄,而高环数的 PAHs 主要通过粪便排出体外<sup>[11]</sup>。这可能是一般人群尿液低环数 PAHs 羟基代谢物占绝大多数,1-羟基芘和其他高环 PAHs 代谢物浓度较低的原因之一。

由于不同环数的 PAHs 在理化性质上的差异,导致不同 PAHs 在环境中的分布以及在一般人群中 PAHs 的来源、暴露途径及代谢上会有差异<sup>[9]</sup>。萘因具有高的饱和蒸汽压,在环境中极易挥发,环境中的萘 90%分布于大气中,且萘受不同环境条件的影响,在气态和颗粒态中的分布极不稳定。有学者提出用单羟基萘作为环境萘暴露水平的生物标志物<sup>[12]</sup>;也有人提出用单羟基萘与 1-HOP 联合指示复杂混合 PAHs 的内暴露水平<sup>[13]</sup>。可能采用 2-HON 作为生物标志物要比 1-HOP 更能客观反映挥发性 PAHs(如萘)在体内的暴露水平。

### 3.2 儿童萘内暴露水平及影响因素

迄今,国外有关 4~6 岁年龄段儿童萘内暴露水平的文献较少,国内尚未见到报道。与同处一个年龄段的德国儿童相比,本研究受试儿童尿液中 2-HON 的含量中位数是其的 2.5 倍<sup>[12]</sup>;与其他年龄段的青少年相比,其含量要比我们近期研究的该省沿海地区中学生(14~16 岁,5.34  $\mu\text{mol/mol Cr}$ )高近 40%<sup>[7]</sup>,分别是韩国大学生(平均 23.5 岁)的 3 倍<sup>[14]</sup>,美国青少年(12~19 岁)的 6 倍<sup>[3]</sup>;与国内外其他背景人群相比,本研究除了比泰国农村背景人群(12.14  $\mu\text{mol/mol Cr}$ )低外<sup>[15]</sup>,均比我国两个农村背景人群高近 3 倍和 1.5 倍<sup>[6]</sup>。表明本研究受试儿童可能处于较高的萘暴露水平。

有研究认为萘的内暴露与饮食无关<sup>[16]</sup>,吸烟会显著影响萘的内暴露水平外<sup>[9]</sup>。有研究显示每支香烟燃烧可产生 200 ng 萘<sup>[17]</sup>,吸烟人群尿液中的 2-HON 浓度是非吸烟人群的 5 倍<sup>[18]</sup>。此外,也有不少研究显示年龄、性别、身高等个体差异与 PAHs 的内暴露水平没有明显关系<sup>[19]</sup>,但美国疾控中心的研究显示,在 6~11 岁儿童可检出的 PAHs 羟基代谢物浓度高于 12~19 岁的青少年以及成人,且女性尿液中的 1-HON、2-HON 和 1-PHEN(1-羟基菲)浓度高于男性<sup>[3]</sup>。本研究统计分析显示,个体差异和饮食均不会影响受试儿童尿液中 2-HON 的含量,这充分表明居住和生活的环境是影响本研究人群萘内暴露水平的决定因素。鉴于环境中的萘绝大多数分布于大气中,因此,推测环境中高浓度的萘是本研究受试人群体内萘的主要来源;在高的环境萘浓度背景下,其他因素尚不足以影响这些儿童尿液中 2-HON 的浓度水平。

我国 PAHs 的污染较为严重。据统计,2004 年我国 PAHs 的排放量达 11.4 万 t,约占当年 PAHs 世界排放总量的 29%<sup>[20]</sup>。由于儿童生活、活动环境相对单纯,生活作息规律相似,其尿 HO-PAHs 的浓度可以较好反映该地区 PAHs 的平均暴露水平。因此,世界卫生组织(WHO)推荐儿童人群作为评估环境 PAHs 暴露水平的研究对象。虽然目前没有儿童尿液 2-HON 的暴露限值,但有学者提出非吸烟一般人群成人尿液中 2-HON 的参考限值为 20  $\mu\text{g/L}$ <sup>[18]</sup>。与之相比,本研究有 9%的样品高于此值,显示本研究地区环境萘对儿童的影响不容忽视,有必要加强这方面的研究。

### 参考文献:

[1] CDC (Department of Health and Human Services—Centers for Disease Control and Prevention). Third national report on human exposure to

environmental chemicals[R]. USA, 2005, 85–132.

- [2] Miller RL, Garfinkel R, Horton M, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons, environmental tobacco smoke, and respiratory symptoms in an inner-city birth cohort[J]. *Chest*, 2004, 126: 1071–1078.
- [3] Li Z, Courtney DS, Lovisa CR, et al. Concentration and profile of 22 urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in the US population[J]. *Environmental Research*, 2008, 107: 320–331.
- [4] International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, in some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene [R]. 2002, vol 82, 367–435.
- [5] 岳强,王德超,于志强,等.人尿中 10 种多环芳烃同时检测[J]. *中国公共卫生*, 2009, 25(4): 443–444.
- [6] 范瑞芳,于志强,王宇,等.汕头市郊某地人群体内 1-羟基萘、2-羟基萘和 1-羟基芘暴露研究[J]. *环境与健康杂志*, 2009, 26(5): 388–390.
- [7] 岳强,王德超,于志强,等.我国南方某市部分中学生多环芳烃内暴露水平研究[J]. *环境与健康杂志*, 2009, 26(5): 385–387.
- [8] Preuss R. Naphthalene—an environmental and occupational toxicant [J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 2003, 76: 556–576.
- [9] 李新荣,李本纲,陶澍,等.天津地区人群对多环芳烃的暴露[J]. *环境科学学报*, 2005, 25(7): 789–993.
- [10] Grova N, Feidt C, Laurent C, et al. [C-14] Milk, urine and faeces excretion kinetics in lactating goats after an oral administration of [C-14] polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Int Dairy J*, 2002, 12: 1025–1031.
- [11] Ramesh A, Walker S A, Hood D B, et al. Bioavailability and risk assessment of orally ingested polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Int J Toxicol*, 2004, 23: 301–333.
- [12] Preuss R, Angerer J. Simultaneous determination of 1- and 2-naphthol in human urine using on-line clean-up column-switching liquid chromatography-fluorescence detection [J]. *J Chromatogr B*, 2004, 801: 307–316.
- [13] Andreoli R, Manini P, Bergamaschi E, et al. Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of monoaromatic hydrocarbons in blood and urine: application to people exposed to air pollutants [J]. *Chromatographia*, 1999, 50: 167–172.
- [14] Kim H, Chao S H, Kang J W, et al. Urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentration in male Koreans [J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 2001, 74: 59–62.
- [15] Chetianukornkul T, Toriba A, Kameda T, et al. Simultaneous determination of urinary hydroxylated metabolites of naphthalene, fluorine, phenanthrene, fluoranthene and pyrene as multiple biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Anal Bioana. Chem*, 2006, 386: 712–718.
- [16] Yang M, Kim S, Lee E, et al. Sources of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in non-occupationally exposed Koreans [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2003, 42: 250–257.
- [17] Ding YS, Trommel JS, Yan XZ J, et al. Determination of 14 polycyclic aromatic hydrocarbons in mainstream smoke from domestic cigarettes [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, 39: 471–478.
- [18] Wilhelm M, Hardt J, Schulz C, et al. New reference value and the background exposure for the PAH metabolites 1-hydroxypyrene and 1- and 2-naphthol in urine of the general population in Germany: Basis for validation of human biomonitoring data in environmental medicine [J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2008, 211: 447–53.
- [19] Mucha AP, Hryhorczuk D, Serdyuk A, et al. Urinary 1-hydroxypyrene as a biomarker of PAH exposure in 3-year-old Ukrainian children [J]. *Environ Health Perspect*, 2006, 114: 603–609.
- [20] Zhang Y, Tao S. Global atmospheric emission inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for 2004 [J]. *Atmos Environ*, 2009, 43: 812–819.

(收稿日期 2010-04-14 修回日期 2010-06-15)