

柴油机尾气中多环芳烃暴露生物标志物的表征及应用

林欢, 夏筱文, 林泳峰

青岛大学公共卫生学院, 山东 青岛 266071

摘要:

柴油机尾气是大气污染物的重要来源,属于1类致癌物。研究表明,柴油机尾气暴露会增加呼吸系统和心血管系统疾病的发病率。柴油机尾气的毒性效应与其组构成密切相关,其中,多环芳烃是柴油机尾气中的主要毒性组分之一,经常作为人体暴露生物标志物用于柴油机尾气的暴露评估。但多环芳烃存在众多其他来源,会对柴油机尾气的暴露评估产生干扰。因此,寻找特异性强、可靠性高的多环芳烃暴露生物标志物已经成为目前研究的重点,对于间接确定柴油机尾气人体暴露量,确定柴油机尾气暴露剂量-反应关系具有重要作用。本文围绕近年来柴油机尾气中多环芳烃人体暴露生物标志物方面的研究进展,旨在:(1)厘清柴油机尾气中多环芳烃类物质的人体暴露生物标志物种类;(2)从职业暴露和环境暴露角度,探讨多环芳烃暴露生物标志物用于评估柴油机尾气暴露的适用性和局限性;(3)简要概括人体尿液样本中多环芳烃暴露生物标志物的分析方法,并比较不同分析方法的优缺点。

关键词: 柴油机尾气; 职业暴露; 环境暴露; 暴露生物标志物; 多环芳烃及其代谢产物; 检测方法

Characterization and application of exposure biomarkers of polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel exhaust LIN Huan, XIA Xiaowen, LIN Yongfeng (School of Public Health, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China)

Abstract:

Diesel exhaust (DE), Group 1 carcinogen, is an important source of air pollutants. Studies show that DE exposure associates with elevated incidences of respiratory and cardiovascular diseases. The toxic effects of DE are closely related to its components. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are one of the main toxic components in DE and are often used as human exposure biomarkers to DE. However, the exposure assessment of DE using PAHs as biomarkers could be interfered due to the other sources of PAHs. Therefore, identification of highly specific and reliable PAHs sourced biomarkers of DE exposure has become a hotspot of current research. New biomarkers of DE may play an important role in determining human exposure to DE and establishing dose-response relationship of DE exposure and health outcomes of interest. This paper focused on current progress in terms of PAHs sourced biomarkers of human exposure to DE with the following aims: (1) to clarify the types of PAHs sourced biomarkers to DE; (2) to explore the applicability and limitations of PAHs sourced biomarkers for DE exposure assessment in occupational exposure and environmental exposure analysis; and (3) to summarize the analysis methods for PAHs sourced exposure biomarkers in human urine samples and compare the advantages and disadvantages of different analytical methods.

Keywords: diesel exhaust; occupational exposure; environmental exposure; exposure biomarker; polycyclic aromatic hydrocarbons and metabolites; analytical method

由于柴油发动机热效率高、燃油经济性好而被广泛应用于工程机械、发电、船舶、农业机械等。虽然目前我国机动车数量以小型汽油车为主,但柴油机尾气(diesel exhaust, DE)中气态污染物和颗粒物(particulate matter, PM)的排放量远高于汽油机尾气^[1-2]。DE成分繁杂,包括颗粒相和气态有毒物质,例如重金属、元素碳(elemental carbon, EC)、有机碳(organic carbon, OC)、无机盐等。其中EC是DE及汽油机尾气的重要组成部分,相较于汽油机尾气,DE中EC的含量更高,



DOI 10.11836/JEOM22431

撰稿专家

郑玉新(青岛大学公共卫生学院),
E-mail: yxzheng@qdu.edu.cn
晋小婷(青岛大学公共卫生学院),
E-mail: xtjin@qdu.edu.cn

基金项目

国家自然科学基金项目(22006083)

作者简介

林欢(1998—),女,硕士生;
E-mail: 13854552077@163.com

通信作者

林泳峰, E-mail: yflin@qdu.edu.cn

作者中包含编委会成员 无

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2022-10-27

录用日期 2023-03-16

文章编号 2095-9982(2023)05-0529-07

中图分类号 R114

文献标志码 A

►引用

林欢, 夏筱文, 林泳峰. 柴油机尾气中多环芳烃暴露生物标志物的表征及应用[J]. 环境与职业医学, 2023, 40(5): 529-535.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22431

Funding

This study was funded.

Correspondence to

LIN Yongfeng, E-mail: yflin@qdu.edu.cn

Editorial Board Members' authorship No

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2022-10-27

Accepted 2023-03-16

► To cite

LIN Huan, XIA Xiaowen, LIN Yongfeng. Characterization and application of exposure biomarkers of polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel exhaust[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2023, 40(5): 529-535.

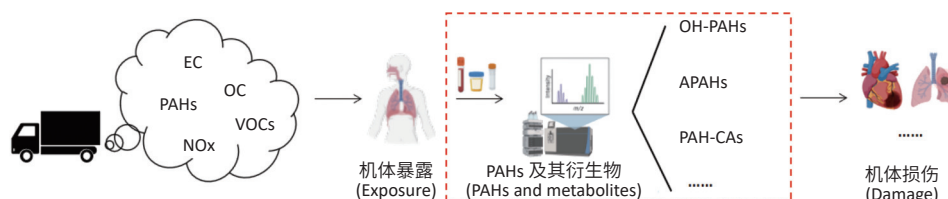
► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22431

因此 OC/EC 值可用来指示大气污染物中 DE 和汽油机尾气的贡献量^[3]。已有研究表明, DE 暴露可对职业人群(如矿工、柴油机试车工)的健康产生众多不良影响^[4-5], 增加其肺癌患病风险^[6-7]。同样, DE 的环境暴露会增加普通人群的患病风险, DE 暴露与多种疾病密切相关, 包括肺部疾病、自身免疫性疾病、心血管系统疾病等^[8-9]。因此, DE 已被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)列为 1 类致癌物^[10-11]。

DE 的化学成分受发动机技术和燃料成分的影响,

而组分的差异直接影响其毒性作用的强弱。由于缺乏有关暴露的定量数据, DE 的暴露剂量-反应关系难以量化, 寻找 DE 暴露早期生物标志物, 从而确定 DE 的人体暴露量, 对于阐明 DE 的不良健康效应至关重要^[12]。多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是碳氢化合物不完全燃烧的产物, 在 DE 中含量很高, 其代谢产物是目前应用最广泛的 DE 暴露生物标志物(图 1)。本文总结了近年来 DE 中 PAHs 人体代谢物作为 DE 内暴露生物标志物的研究进展, 为 DE 的暴露研究提供参考。



[注(Notes)] EC: 元素碳(elemental carbon); OC: 有机碳(organic carbon); PAHs: 多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons); VOCs: 挥发性有机化合物(volatil organic compounds); NO_x: 氮氧化物(nitric oxide); OH-PAHs: 羟基 PAHs(hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons); APAHs: 氨基 PAHs(amino-polycyclic aromatic hydrocarbons); PAH-CAs: 羧基 PAHs(polycyclic aromatic hydrocarbons carboxylic acids)。

图 1 多环芳烃暴露生物标志物在 DE 暴露研究中的重要性

Figure 1 PAHs sourced biomarkers in DE exposure analysis

1 柴油机尾气的组分

DE 主要来自燃料的不完全燃烧, 包括颗粒相和气态组分。DE 中的气态成分主要包括二氧化碳、氮氧化物和一氧化碳等^[13]。此外, 还有少量的二氧化硫和各种有机化合物(烷烃、烯烃、羰基化合物、芳烃及其硝化衍生物)。颗粒相主要由单质碳和吸附的物质组成, 如 PAHs 及其衍生物、硫酸盐、硝酸盐、铵盐、金属离子等^[11,14-15]。

1.1 气态组分

DE 的气态组分主要包括二氧化碳、氮氧化物和挥发性有机化合物(volatil organic compounds, VOCs)。在我国河南省一重型柴油机试车车间(有柴油机持续运行)采集的大气样本分析结果显示, 烷烃及其衍生物、环烷烃衍生物、苯及其衍生物是 DE 气态组分中的主要有机物, 分别占总气态有机物总质量的 49.8%、1.6%和 37.2%。而 C₁₀-C₁₂ 烷烃是烷烃及其衍生物中的主要成分, 质量占比为 86.9%; 环烷烃衍生物主要包括甲基环己烷和乙基环己烷; 1,2,3-三甲基苯是苯衍生物中含量最高的组分, 质量占比为 32.6%^[3]。DE 中的气态有机化合物在大气中可氧化形成二次有机气溶胶(secondary organic aerosol, SOA), 是大气细颗粒物的重要组成部分^[16]。

1.2 颗粒相组分

柴油机尾气颗粒物(diesel particulate matter, DPM)

是空气中可吸入颗粒物的重要组成部分, 主要颗粒直径小于 2.5 μm^[17]。DPM 以 EC 和 OC 为核心, 分别占颗粒物质量的 33%~90% 和 7%~49%, 其成分包括 PAHs 及其衍生物、硝基酚等有机化合物, 并含有少量硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐、重金属和其他微量元素等^[18]。

2 柴油机尾气中 PAHs 人体暴露生物标志物及其检测方法

DE 是造成空气污染的重要来源, 找到针对 DE 的人体内暴露生物标志物将有助于确定环境中 DE 的暴露量, 从而更准确地评估 DE 所造成的健康风险。目前, DE 暴露的生物标志物研究主要集中在 PAHs。

2.1 PAHs 代谢物羟基 PAHs

PAHs 主要由有机物的不完全燃烧产生, 其化学性质稳定, 具有致癌、致畸、致突变的特性^[17]。美国环保署已将 16 种 PAHs 类物质列为优控污染物, 包括萘(naphthalene, Nap)、苊烯(acenaphthylene, Acy)、苊(acenaphthene, Ace)、苊(fluorene, Flu)、蒽(anthracene, Ant)、菲(phenanthrene, Phe)、荧蒽(fluroanthene, Fla)、芘(pyrene, Pyr)、蒽(chrysene, Chr)、苯并[a]蒽(benz[a]anthracene, BaA)、苯并[b]荧蒽(benzo[b]fluoranthene, BbF)、苯并[k]荧蒽(benzo[k]fluoranthene, BkF)、苯并[a]芘(benzo[a]pyrene, BaP)、

茚并[1,2,3-*cd*]芘(indeno[1,2,3-*cd*]pyrene, IcdP)、苯并[*ghi*]苈(benzo[*ghi*]perylene, BghiP)和二苯并[*a,h*]蒽(dibenz[*a,h*]anthracene, DahA)(图2)。其中, BaP 被 IARC 归类为 1 类致癌物^[11]。研究发现, PAHs 在较细颗

粒中(粒径 < 1.1 μm)积累量较高,更易于通过呼吸道进入人体引发健康危害^[19-20]。而 DPM 以 15~25 nm 粒径的超细颗粒物为主^[3],因此,DE 中 PAHs 的暴露风险不容忽视。

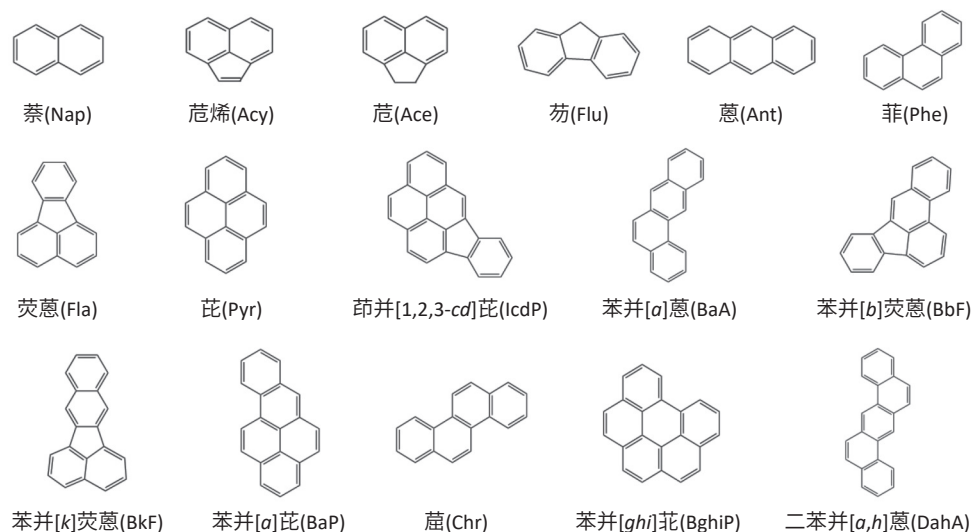


图2 美国环保署规定的 16 种多环芳烃类优先控污染物

Figure 2 The 16 priority PAHs regulated by the US Environmental Protection Agency

PAHs 进入人体后可在氧化酶的参与下发生 I 相反应,氧化生成含氧化合物,再通过自异构化作用生成羟基 PAHs(hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons, OH-PAHs),因此,尿中 OH-PAHs 可以作为反映人体暴露 PAHs 的生物标志物^[21]。OH-PAHs 可与谷胱甘肽、葡萄糖醛酸等发生 II 相反应,结合生成水溶性化合物随尿液或粪便排出体外。部分代谢物可与蛋白质或 DNA 结合产生致癌作用。

OH-PAHs 作为内暴露标志物已经应用于 DE 的暴露评估中。例如,为评估公共汽车修理厂工人和垃圾运输车司机 DE 的暴露情况, Kuusimäki 等^[22]测量了班前和班后人群尿液中 7 种 OH-PAHs,包括 2-萘酚(2-naphthol, 2-Naph)、1-/2-/3-/4-/9-羟基菲(1-/2-/3-/4-/9-hydroxyphenanthrene, 1-/2-/3-/4-/9-OHPhe)和 1-羟基芘(1-hydroxypyrene, 1-OHP)的水平。结果显示,无论夏季还是冬季,DE 暴露组人员(公共汽车修理厂工人和垃圾运输车司机)在班后尿液中的 OH-PAHs 水平[冬季为 $(3.94 \pm 3.40) \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ (以肌酐计,下同);夏季为 $(5.60 \pm 6.37) \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$]明显高于对照组白领工人的水平[冬季为 $(3.18 \pm 3.99) \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$;夏季为 $(3.03 \pm 2.01) \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$]。因此,在 DE 职业暴露中,尿液中萘、菲和芘的羟基代谢物可以作为 DE 的暴露生物标志物。

不同 OH-PAHs 作为 DE 内暴露标志物的特异性尚

需在研究中进行确认。Niu 等^[3]比较了 137 名柴油机试车工人(暴露组)和 127 名自来水厂工人(非暴露组)尿液样本中 1-羟基萘(1-hydroxynaphthalene, 1-OHNap)、2-羟基萘(2-hydroxynaphthalene, 2-OHNap)、2-羟基芘(2-hydroxyfluorene, 2-OHFlu)、2-OHPhe、9-OHPhe 和 1-OHP 等 6 种 OH-PAHs 的水平。发现暴露组工人与非暴露组工人尿 OH-PAHs 浓度的中位数比值以 OHPhe(4.3)最高, OHNap(2.5)最低;且通过主成分分析发现, OHPhe 浓度与 DE 暴露高度相关。因此,相较于其他 OH-PAHs, OHPhe 可能是 DE 暴露的一种特异性更强的生物标志物。

与其他 PAHs 代谢物(见下文“2.2”“2.3”)相比,目前 OH-PAHs 作为 DE 暴露标志物的应用更为广泛。但 PAHs 来源众多,汽油机尾气、燃煤、生物质燃烧等过程均能产生大量的 PAHs,机动车排放对大气中 PAHs 的贡献率仅有 12.8%^[23]。因此,OH-PAHs 作为 DE 暴露标志物可能仅适用于 DE 职业高暴露环境中(如矿工、柴油机试车工等)。此外,研究显示,DE 中以低分子量 PAHs 为主,而汽油机尾气中主要为较高分子量 PAHs,如 BaP 和 DahA^[24-25]。因此,低分子量 PAHs 的代谢物如 OHP 可作为 DE 职业暴露的特异性标志物。

2.2 硝基 PAHs 代谢物氨基 PAHs

硝基 PAHs(nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons,

NPAHs)是一类具有强氧化性的芳香族化合物,可来源于柴油不完全燃烧的初级排放或 PAHs 与 NO_3 自由基反应的二次生成^[26]。与 PAHs 相比,NPAHs 在环境中半衰期长,致癌和致畸性更强^[27]。NPAHs 在人体中主要通过羟基化、亚硝基还原和乙酰化途径进行代谢,例如 1-硝基芘在尿液中可识别的代谢物包括羟基-1-硝基芘、羟基-N-乙酰基-1-氨基芘、N-乙酰基-1-氨基芘和 1-氨基芘(1-aminopyrene, 1-AP)^[28],因此尿液中的氨基 PAHs (amino-polycyclic aromatic hydrocarbons, APAHs)可作为 NPAHs 的暴露生物标志物^[29]。

尿液中 APAHs 已作为 DE 暴露生物标志物用于 DE 职业暴露和普通人群环境暴露的研究中。Laumbach 等^[29]比较了暴露于 DE 和清洁空气人群的尿液中 1-AP 的水平,发现暴露组 1-AP 中位数($138.7 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$)明显高于非暴露组($21.7 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$),表明 1-AP 可以作为 DE 暴露的生物标志物。但考虑到个体差异的影响,后续还需进一步研究其他可能影响 1-硝基芘转化为 1-AP 的主体变量。

部分研究显示尿液中 APAHs 可能是比 OH-PAHs 更可靠的 DE 暴露特异性标志物。例如, Du 等^[30]评估了金矿工人尿液中 1-AP 和 1-OHP 水平的变化及其与 EC 的关系。发现两者中位数水平在轮班后的样本中($3.39 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.20 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)较班前($2.31 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.14 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)均明显增加;线性回归模型结果也显示尿液中 1-AP 浓度与 EC 暴露相关,而 1-OHP 水平与当前吸烟状态相关,表明尿液中 OH-PAHs 更易受到其他非 DE 暴露来源的影响。

APAHs 也可作为 DE 环境暴露的标志物。Yang 等^[31]对 98 名英国居民 177 份尿液样本中的 1-氨基萘(1-naphthylamine, 1-AN)、2-氨基萘(2-naphthylamine, 2-AN)、2-氨基苊(2-aminofluorene, 2-AF)、9-氨基菲(9-aminophenanthrene, 9-APhe)和 1-AP 进行了分析,并评估其与各种交通指标(距主要道路的距离、住所 100 m 内不同类型道路的总长度、车辆总流量)之间的关系。线性混合效应模型结果显示居住在距离主要道路 100 m 范围内的参与者尿液中 2-AF 的浓度明显升高,且与柴油发动机驱动的重型车辆流量相关(OR 为 1.48, 95% CI 为 1.04~2.12),因此,尿液中的 2-AF 可作为城市居民柴油机尾气的潜在暴露生物标志物。

尽管 NPAHs 在 DE 暴露 PAHs 类物质中的占比较小,但部分 NPAHs(如 1-硝基芘和 2-硝基苊)在 DPM 中的含量可比城市环境颗粒物高 3 个数量级,因此,DE 是大气中 1-硝基芘和 2-硝基苊的主要来源^[32]。与

OH-PAHs 相比,尿液中 1-AP 和 2-AF 作为 DE 暴露标志物特异性更强,适用范围更广,不仅可用于 DE 职业暴露量,也可用于 DE 环境暴露量评估。

2.3 烷基化 PAHs 代谢产物羧基 PAHs

烷基化 PAHs 主要来源于石油源(如原油和石油制品)和燃烧源(如化石燃料燃烧)。研究发现,在车流量较大的交通站点,大气中多环芳族化合物(polycyclic aromatic compounds, PACs)以烷基化 PAHs 为主[年平均质量浓度为($61.8 \pm 29.9 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$)^[33]。DPM 中烷基化 PAHs 总浓度($0.5\sim 96.9 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)甚至超过 16 种优控 PAHs^[31],是 DE 的重要组分。烷基化 PAHs 可通过侧链羟基化和氧化进行代谢产生多环芳烃羧酸(polycyclic aromatic hydrocarbons carboxylic acids, PAH-CAs), PAH-CAs 同样可与葡萄糖醛酸结合^[34]。毒理学研究结果显示,烷基化的 PAHs 可能比未取代的 PAHs 毒性更大^[35]。然而,目前针对烷基化 PAHs 及其代谢物的研究较少,尚无研究数据表明 PAH-CAs 是否可作为 DE 暴露的生物标志物。

Lin 等^[36]在研究中采集了 45 名洛杉矶居民在前往北京前、北京居住期间和回洛杉矶之后共 314 个尿液样本中烷基萘(alkyl-naphthalene, 2-NAPCA)和烷基菲(alkyl-phenanthrene, 2-PHECA)的羧酸代谢物,2-萘甲酸(2-naphthoic acid, 2-NAP)和 2-菲甲酸(2-phenanthric acid, 2-PHE)的浓度水平。结果表明,在北京居住期间 2-NAP 和 2-PHE 的浓度较前往北京前分别增加 348% 和 209%,居民返回洛杉矶后,其浓度恢复到基线水平,可能与交通尾气的排放有关,并且 PAH-CAs 的浓度与 OH-PAHs 相关。这些结果间接表明尿液中 PAH-CAs 同 OH-PAHs 具有相似的来源,很可能也可作为 DE 新型暴露生物标志物。

2.4 PAHs 暴露生物标志物的检测方法

PAHs 进入人体后经代谢随尿液排出体外,因此,针对 PAHs 人体暴露生物标志物的检测主要针对尿液样本中的 PAHs 代谢物。目前常用的测定方法主要有高效液相色谱-质谱(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)联用、气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用、HPLC-荧光检测器(HPLC-fluorescence detector, HPLC-FLD)联用、毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)-FLD(CE-FLD)联用、酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、电化学检测(electrochemical detection, ED)法等^[37]。

HPLC/GC-MS 由于灵敏度高,检测限低,特异性好,

目前在人体尿液 PAHs 代谢物的检测中占重要地位,与其他检测器相比,其检出限可低 10~100 个数量级,因此可满足尿液中含量较低 PAHs 代谢物(如高环数 PAHs)的检测需求。HPLC/GC-MS 检测时需要将尿液样本进行复杂的前处理过程,通常包括酶解(β-葡萄糖醛酸酶和芳基硫酸酯酶)、萃取、净化和浓缩等步骤,GC-MS 检测前还需对 PAHs 代谢物进行衍生化处理(常用重氮甲烷)^[36,38]。另外, HPLC/GC-MS 设备相对昂贵,这也限制了其大规模的应用。

相对于 HPLC/GC-MS, HPLC-FLD 检测方法在 PAHs 代谢物的检测中应用更为广泛。不同苯环数量的 PAHs 代谢物荧光激发/发射波长存在差异,因此, HPLC-FLD 检测 PAHs 代谢物时同样具有高灵敏度和特异性,且稳定性好^[39]。该方法不需要衍生化处理,但同样需要对尿液样本进行复杂的前处理过程(同 HPLC/GC-MS),其对荧光强度较弱的物质(如 2-OHPhe)灵敏度较差。此外,对于位置异构体,其荧光激发/发射波长相同,FLD 不能有效区分。在样本检测过程中,需要优

化色谱分离条件实现位置异构体的色谱分离才能对不同位置异构体进行区分。

CE 是近年来快速发展的分离技术之一,其分离效率高且重现性好,且可与紫外检测器、MS、FLD 等多种检测器实现联用,大大提高了其应用范围。与色谱分离技术相比,CE 分离技术对位置异构体的分离效率更高^[40],可快速实现位置异构体的分离。ELISA 是一种快速、经济的检测方法,在检测尿液中的 PAHs 代谢物不需要复杂的样品前处理过程,仅需对样本进行酶解处理。但该方法易受尿液基质的干扰,且对低分子量的 PAHs(如苄和萘)代谢物响应较低^[41],更适用于对 PAHs 及其代谢物总量的测定。ED 法用于测定 PAHs 代谢物的研究尚处于起步阶段。Yosypchuk 等^[42]建立了分析尿液中 1-OHP 的 HPLC-ED 分析方法,定量限为 0.043 μmol·L⁻¹。ED 法操作简单,分析速度快且价格便宜,但易受金属离子的干扰,且线性范围较窄^[42-43],其在尿液中 PAHs 代谢物测定中的应用尚需进一步优化。

人体尿液中 PAHs 代谢物的检测方法汇总见表 1。

表 1 人体尿液中 PAHs 代谢物的检测方法
Table 1 Analytical methods for PAHs metabolites in human urine samples

生物标志物 (Biomarker)	目标物 (Target analyte)	前处理方法 (Pretreatment method)	仪器检测方法 (Instrumental method)	检出限 (Limit of detection)	参考文献 (Reference)
羟基多环芳烃 (OH-PAHs)	1-羟基萘(1-OHP)、2-萘酚(2-Naph)、1-/2-/3-/4-/9-羟基菲(1-/2-/3-/4-/9-OHPhe)	固相萃取(solid phase extraction, SPE)(C18)	HPLC-FLD	0.7~6.9 nmol·L ^{-1a}	[22]
	羟基萘(OHPhe)、羟基萘(OHNap)、羟基苊(OHFlu)等 12 种 OH-PAHs	液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE) (正己烷: 甲基叔丁基醚=9:1, 体积比) (n-hexane: methyl tert-butyl ether=9:1)+硅胶柱层析净化(silica gel chromatography purification)	GC-MS	7.5~18.2 ng·L ⁻¹	[38]
	2-羟基苊(2-OHFlu)、2-羟基萘(2-OHNap)、1-羟基萘(1-OHP)、9-羟基菲(9-OHPhe)、3-/4-/5-羟基苯并[a]苊(3-/4-/5-OHBaP)	固相萃取(SPE)(C18)	CE-FLD	0.99~8.54 μg·L ⁻¹	[40]
	1-羟基萘(1-OHNap)、2-羟基萘(2-OHNap)、9-羟基苊(9-OHFlu)和 1-羟基萘(1-OHP)	液液萃取(LLE)(戊烷)(pentane)	ELISA	14~720 μg·L ⁻¹	[41]
	1-羟基萘(1-OHP)	固相萃取(SPE)(C18)	HPLC-ED	0.043 μmol·L ^{-1a}	[42]
氨基多环芳烃 (APAHs)	羟基萘(OHP)、羟基萘(OHNap)、羟基苊(OHFlu)、羟基菲(OHPhe)、羟基萘(OHChr)、羟基苯并[a]苊(OHBaP)等 14 种 OH-PAHs	液液萃取(LLE)(乙酸乙酯) (ethyl acetate, EtOAc)	HPLC-MS/MS	0.0875~3.43 μg·L ⁻¹	[44]
	9-羟基菲(9-OHPhe)、1-/2-羟基萘(1-/2-OHNap)、2-/9-羟基苊(2-/9-OHFlu)、1-羟基萘(1-OHAc)	微量固相萃取(solid-phase microextraction, SPME)(C18)	GC-MS	0.6~19.4 ng·L ⁻¹	[45]
	1-羟基萘(1-OHP)、羟基苊(OHFlu)、羟基菲(OHPhe)、羟基苯并菲(OHBcP)、羟基苯并苊(OHBaA)、羟基萘(OHChr)等 24 种 OH-PAHs	液液萃取(LLE)(戊烷)(pentane)	GC-HRMS	2.6~18 ng·L ⁻¹	[46]
	1-氨基萘(1-AP)	液液萃取(LLE)(二氯甲烷) (dichloromethane)	HPLC-FLD	0.02 μg·L ⁻¹	[29]
羧基多环芳烃 (PAH-CAs)	1-/2-氨基萘(1-/2-AN)、9-氨基菲(9-APhe)、2-氨基苊(2-AF)、1-氨基萘(1-AP)	液液萃取(LLE)(乙酸乙酯)(EtOAc)	HPLC-MS/MS	0.02 μg·L ⁻¹¹	[47]
	1-/2-氨基萘(1-/2-AN)、1-氨基萘(1-AP)	液液萃取(LLE)(乙酸乙酯)(EtOAc)	HPLC-FLD	0.02~0.04 μg·L ⁻¹	[48]
	2-萘甲酸(2-NAP)、2-菲甲酸(2-PHE)	液液萃取(LLE)(正己烷: 甲基叔丁基醚=9:1, 体积比)(n-hexane: methyl tert-butyl ether=9:1)+柱层析净化 (column chromatography purification)	GC-MS	15~31 μg·L ⁻¹	[36]

[注] a: 该数值为定量限。

[Note] a: The value is the limit of quantitation.

3 结论

目前已有多种 PAHs 代谢物用作 DE 的暴露生物标志物, 主要包括 OH-PAHs、APAHs 和 PAH-CAs。其中, 尿液中的 OH-PAHs 是应用最多的 DE 暴露标志物。但由于有其他来源的干扰(如生物质燃烧、汽油机尾气等), OH-PAHs 作为 DE 暴露标志物可能仅适用于 DE 职业高暴露环境(如矿工、柴油机试车工等)。此外, 低分子量 PAHs 的代谢物如 OHP 可作为 DE 职业暴露的特异性标志物。与 OH-PAHs 相比, 尿液中 1-AP 和 2-AF 作为 DE 暴露标志物特异性更强, 可用于 DE 的职业暴露和环境暴露量评估。PAH-CAs 是否可作为 DE 暴露的生物标志物尚需确认。目前, 对尿液样本中 PAHs 代谢物的分析多采用 HPLC/GC-MS 和 HPLC-FLD 方法, 其灵敏度高、检测限低。其他检测方法的应用非常有限。随着检测技术的不断进步, HPLC 与离子淌度质谱联用、超临界流体色谱与质谱联用技术不断成熟, 未来有望用于 PAHs 代谢物的分析中。

参考文献

- [1] WONG YK, HUANG X H, LOUIE P K K, et al. Tracking separate contributions of diesel and gasoline vehicles to roadside PM_{2.5} through online monitoring of volatile organic compounds and PM_{2.5} organic and elemental carbon: a 6-year study in Hong Kong[J]. *Atmos Chem Phys*, 2020, 20(16): 9871-9882.
- [2] HUANG C, LOU D, HU Z, et al. A PEMS study of the emissions of gaseous pollutants and ultrafine particles from gasoline- and diesel-fueled vehicles[J]. *Atmos Environ*, 2013, 77: 703-710.
- [3] NIU Y, ZHANG X, MENG T, et al. Exposure characterization and estimation of benchmark dose for cancer biomarkers in an occupational cohort of diesel engine testers[J]. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2018, 28(6): 579-588.
- [4] COSTELLO S, ATTFIELD MD, LUBIN J H, et al. Ischemic heart disease mortality and diesel exhaust and respirable dust exposure in the diesel exhaust in miners study[J]. *Am J Epidemiol*, 2018, 187(12): 2623-2632.
- [5] RYU M H, AFSHAR T, LI H, et al. Impact of exposure to diesel exhaust on inflammation markers and proteases in former smokers with chronic obstructive pulmonary disease: a randomized, double-blinded, crossover study[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 205(9): 1046-1052.
- [6] LIU H, LI J, MA Q, et al. Chronic exposure to diesel exhaust may cause small airway wall thickening without lumen narrowing: a quantitative computerized tomography study in Chinese diesel engine testers[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2021, 18(1): 14.
- [7] ILAR A, PLATO N, LEWNE M, et al. Occupational exposure to diesel motor exhaust and risk of lung cancer by histological subtype: a population-based case-control study in Swedish men[J]. *Eur J Epidemiol*, 2017, 32(8): 711-719.
- [8] HU W, WONG J Y Y, DAI Y, et al. Occupational exposure to diesel engine exhaust and serum levels of microRNAs in a cross-sectional molecular epidemiology study in China[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2023, 64(3): 159-166.
- [9] BASSIG BA, DAI Y, VERMEULEN R, et al. Occupational exposure to diesel engine exhaust and alterations in immune/inflammatory markers: a cross-sectional molecular epidemiology study in China[J]. *Carcinogenesis*, 2017, 38(11): 1104-1111.
- [10] BENBRAHIM-TALLAA L, BAAN RA, GROSSE Y, et al. Carcinogenicity of diesel-engine and gasoline-engine exhausts and some nitroarenes[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(7): 663-664.
- [11] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans[J]. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 2014, 105: 9-699.
- [12] REIS H, REIS C, SHARIP A, et al. Diesel exhaust exposure, its multi-system effects, and the effect of new technology diesel exhaust[J]. *Environ Int*, 2018, 114: 252-265.
- [13] GODRI POLLITT K J, CHHAN D, RAIS K, et al. Biodiesel fuels: a greener diesel? A review from a health perspective[J]. *Sci Total Environ*, 2019, 688: 1036-1055.
- [14] FARAHANI V J, PIRHADI M, SIOUAS C. Are standardized diesel exhaust particles (DEP) representative of ambient particles in air pollution toxicological studies?[J]. *Sci Total Environ*, 2021, 788: 147854.
- [15] LONG E, SCHWARTZ C, CARLSTEN C. Controlled human exposure to diesel exhaust: a method for understanding health effects of traffic-related air pollution[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2022, 19(1): 15.
- [16] BLAIR S L, MACMILLAN A C, DROZD G T, et al. Molecular characterization of organosulfur compounds in biodiesel and diesel fuel secondary organic aerosol[J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 51(1): 119-127.
- [17] CHENG M T, CHEN H J, YOUNG L H, et al. Carbonaceous composition changes of heavy-duty diesel engine particles in relation to biodiesels, aftertreatments and engine loads[J]. *J Hazard Mater*, 2015, 297: 234-240.
- [18] WICHMANN H E. Diesel exhaust particles[J]. *Inhal Toxicol*, 2007, 19 Suppl 1: 241-244.
- [19] FAMIYEH L, CHEN K, XU J, et al. A review on analysis methods, source identification, and cancer risk evaluation of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Sci Total Environ*, 2021, 789: 147741.
- [20] SHEN R, WANG Y, GAO W, et al. Size-segregated particulate matter bound polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) over China: size distribution, characteristics and health risk assessment[J]. *Sci Total Environ*, 2019, 685: 116-123.
- [21] 牛红云, 蔡亚岐, 魏复盛, 等. 多环芳烃暴露的生物标志物——尿中羟基多环芳烃[J]. *化学进展*, 2006, 18(10): 1381-1390.
- [22] NIU H Y, CAI Y Q, WEI F S, et al. Hydroxyl polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine as biomarkers of exposure to PAHs[J]. *Prog Chem*, 2006, 18(10): 1381-1390.
- [23] KUUSIMÄKI L, PELTONEN Y, MUTANEN P, et al. Urinary hydroxy-metabolites of naphthalene, phenanthrene and pyrene as markers of exposure to diesel exhaust[J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 2004, 77(1): 23-30.
- [24] SHEN H, HUANG Y, WANG R, et al. Global atmospheric emissions of polycyclic aromatic hydrocarbons from 1960 to 2008 and future predictions[J]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(12): 6415-6424.
- [25] MIGUEL A H, KIRCHSTETTER T W, HARLEY R A, et al. On-road emissions of particulate polycyclic aromatic hydrocarbons and black carbon from gasoline and diesel vehicles[J]. *Environ Sci Technol*, 1998, 32(4): 450-455.
- [26] RIDDLE S G, JAKOBER C A, ROBERT M A, et al. Large PAHs detected in fine particulate matter emitted from light-duty gasoline vehicles[J]. *Atmos Environ*, 2007, 41(38): 8658-8668.
- [27] CHETIYANUKORNKUL T, TORIBA A, KAMEDA T, et al. Simultaneous determination of urinary hydroxylated metabolites of naphthalene, fluorene,

- phenanthrene, fluoranthene and pyrene as multiple biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 386(3): 712-718.
- [27] DURANT JL, BUSBY WF, LAFLEUR AL, et al. Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols[J]. *Mutat Res*, 1996, 371(3/4): 123-157.
- [28] TORIBA A, KITAOKA H, DILLS RL, et al. Identification and quantification of 1-nitropyrene metabolites in human urine as a proposed biomarker for exposure to diesel exhaust[J]. *Chem Res Toxicol*, 2007, 20(7): 999-1007.
- [29] LAUMBACH R, TONG J, ZHANG L, et al. Quantification of 1-aminopyrene in human urine after a controlled exposure to diesel exhaust[J]. *J Environ Monit*, 2009, 11(1): 153-159.
- [30] DU M, MULLINS BJ, FRANKLIN P, et al. Measurement of urinary 1-aminopyrene and 1-hydroxypyrene as biomarkers of exposure to diesel particulate matter in gold miners[J]. *Sci Total Environ*, 2019, 685: 723-728.
- [31] YANG Z, LIN Y, WANG S, et al. Urinary amino-polycyclic aromatic hydrocarbons in urban residents: finding a biomarker for residential exposure to diesel traffic[J]. *Environ Sci Technol*, 2021, 55(15): 10569-10577.
- [32] ALBINET A, LEOZ-GARZIANDIA E, BUDZINSKI H, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitrated PAHs and oxygenated PAHs in ambient air of the Marseilles area (South of France): concentrations and sources[J]. *Sci Total Environ*, 2007, 384(1/2/3): 280-292.
- [33] JARIYASOPIT N, TUNG P, SU K, et al. Polycyclic aromatic compounds in urban air and associated inhalation cancer risks: a case study targeting distinct source sectors[J]. *Environ Pollut*, 2019, 252: 1882-1891.
- [34] MALMQUIST LM V, SELCK H, JØRGENSEN KB, et al. Polycyclic aromatic acids are primary metabolites of alkyl-PAHs-a case study with *Nereis diversicolor*[J]. *Environ Sci Technol*, 2015, 49(9): 5713-5721.
- [35] CASAL CS, ARBILLA G, CORRÊA S M. Alkyl polycyclic aromatic hydrocarbons emissions in diesel/biodiesel exhaust[J]. *Atmos Environ*, 2014, 96: 107-116.
- [36] LIN Y, GAO X, QIU X, et al. Urinary carboxylic acid metabolites as possible novel biomarkers of exposures to alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Environ Int*, 2021, 147: 106325.
- [37] 庞月红, 马芸, 崔燕, 等. 多环芳烃暴露生物标志物羟基多环芳烃检测方法的研究进展[J]. *环境与健康杂志*, 2012, 29(6): 567-569.
PANG YH, MA Y, CUI Y, et al. Progress on detection methods for hydroxyl polycyclic aromatic hydrocarbons as a biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *J Environ Health*, 2012, 29(6): 567-569.
- [38] LIN Y, QIU X, YU N, et al. Urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons and the association with lipid peroxidation: a biomarker-based study between Los Angeles and Beijing[J]. *Environ Sci Technol*, 2016, 50(7): 3738-3745.
- [39] 张磊, 方波, 王宏伟, 等. 高效液相色谱-荧光检测法同时测定健康人群尿液中7种羟基多环芳烃[J]. *环境化学*, 2019, 38(11): 2435-2442.
ZHANG L, FANG B, WANG HW, et al. Simultaneous determination of seven hydroxyl polycyclic aromatic hydrocarbons in urine of healthy people by high performance liquid chromatography-fluorescence detection[J]. *Environ Chem*, 2019, 38(11): 2435-2442.
- [40] KNOBEL G, CALIMAG-WILLIAMS K, CAMPIGLIA AD. Solid-phase extraction, sample stacking and capillary zone electrophoresis for the analysis of urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites[J]. *Analyst*, 2012, 137(23): 5639-5647.
- [41] SMITH JP, BIAGINI RE, JOHNSON BC, et al. Assessment of exposure to PACs in asphalt workers: measurement of urinary PACs and their metabolites with an ELISA kit[J]. *Polycyclic Aromat Compd*, 2011, 31(4): 270-285.
- [42] YOSYPCHUK O, BAREK J, VYSKOČIL V. Determination of 1-hydroxypyrene in human urine by HPLC with electrochemical detection at a boron-doped diamond film electrode[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 404(3): 693-699.
- [43] 李皖豫, 缪文彬, 沈晓芳, 等. 电化学传感技术在羟基多环芳烃检测中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(1): 215-219.
LI WY, MIAO WB, SHEN XF, et al. Application of electrochemical sensing technology in detection of hydroxyl polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(1): 215-219.
- [44] SUN Y, KAN Z, ZHANG ZF, et al. Association of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in workers with hypertension from a northeastern Chinese petrochemical industrial area[J]. *Environ Pollut*, 2023, 323: 121266.
- [45] GARCÍA-GARCÍA S, MATILLA-GONZÁLEZ H, PEÑA J, et al. Determination of hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine using automated microextraction by packed sorbent and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(20): 13089.
- [46] LI Z, ROMANOFF LC, TRINIDAD DA, et al. Measurement of urinary mono-hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons using automated liquid-liquid extraction and gas chromatography/isotope dilution high-resolution mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2006, 78(16): 5744-5751.
- [47] HE L, LIN Y, DAY D, et al. Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons and arachidonic acid metabolisms relevant to cardiovascular pathophysiology: findings from a panel study in healthy adults[J]. *Environ Sci Technol*, 2021, 55(6): 3867-3875.
- [48] GONG J, ZHU T, KIPEN H, et al. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites as biomarkers of exposure to traffic-emitted pollutants[J]. *Environ Int*, 2015, 85: 104-110.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 丁瑾瑜)