

# 工作场所空气中双乙酰的 4-硝基邻苯二胺柱前衍生-高效液相色谱测定方法

叶海朋, 邵吉, 谈思维, 单晓月, 张玲, 傅红, 张磊

杭州市职业病防治院卫生检测科, 浙江 杭州 310014

## 摘要:

**[背景]** 双乙酰(DC)被广泛应用于食品调味行业, 过量职业接触会引起人体严重的呼吸系统疾病, 但目前对于工作场所空气中 DC 尚缺乏相应的国家标准检测方法。

**[目的]** 建立 4-硝基邻苯二胺(NPDA)柱前衍生-高效液相色谱法测定工作场所空气中 DC 的方法。

**[方法]** 用溶液吸收法采集工作场所空气中 DC, 采用 4-硝基邻苯二胺作为衍生化试剂。通过调整吸收液磷酸浓度, 优化反应试剂比例、反应温度和时间, 建立测定工作场所空气中 DC 的高效液相色谱方法, 得到线性、检出限、定量下限等性能指标。采用相对比较法评价方法采样效率, 吸收液保存试验评价样品稳定性, 加标回收试验评价方法准确度和精密度, 并进行干扰试验。将所建立的方法应用于实际样品检测, 考察方法的适应性。

**[结果]** 衍生化反应温度越高, 反应时间越长, 衍生化效率越高, 因此选择 60 °C 衍生化 2 h。反应液经 SB-C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)分离, 在 30 °C 柱温下, 用甲醇-水(体积比: 65%/35%)混合液为流动相, 以 1.0 mL·min<sup>-1</sup> 的流速洗脱, 紫外检测器(λ<sub>max</sub>=257 nm)检测, 保留时间定性, 外标法定量。本法 DC 检测范围为 5~2000 μg·L<sup>-1</sup>, 相关系数为 0.999 9, 检出限为 1.3 μg·L<sup>-1</sup>, 定量下限为 4.3 μg·L<sup>-1</sup>, 最低检出浓度为 4.3 μg·m<sup>-3</sup>, 最低定量浓度为 14.3 μg·m<sup>-3</sup>(以采样体积 V<sub>0</sub>=3.0 L 计)。本法样品加标回收率为 99.1%~100.8%, 批内精密度的 0.5%~3.0%, 批间精密度的 1.2%~2.0%。本法平均采样效率为 94.5%, 样品在 4 °C 下至少可保存 14 d, 工作场所空气共存成分不干扰 DC 的测定。本法检测某香精生产车间空气, DC 含量为 5.86~8.85 mg·m<sup>-3</sup>。

**[结论]** 采用 1.0%磷酸吸收液采集、NPDA 柱前衍生-高效液相色谱法测定空气中 DC, 方法简单实用, 准确度好, 灵敏度高, DC 吸收液无损失降解, 可应用于工作场所空气中 DC 的检测。

**关键词:** 柱前衍生; 高效液相色谱; 4-硝基邻苯二胺; 双乙酰

**Determination of diacetyl in workplace air by high performance liquid chromatography using 4-nitro-o-phenylenediamine as precolumn derivatization** YE Haipeng, SHAO Ji, TAN Siwei, SHAN Xiaoyue, ZHANG Ling, FU Hong, ZHANG Lei (Department of Sanitary Analysis, Hangzhou Occupational Disease Prevention and Control Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310014, China)

## Abstract:

**[Background]** Diacetyl (DC) is widely used in the food flavoring industry and excessive occupational exposure to DC can cause serious respiratory diseases. However, there is no corresponding national standard method for the determination of DC in the air of workplace.

**[Objective]** To establish a method for the determination of DC in workplace air by high performance liquid chromatography using 4-nitro-o-phenylenediamine (NPDA) as precolumn derivatization.

**[Methods]** DC in the air of workplace was collected by solution absorption method. This experiment used NPDA as the derivatization reagent. By adjusting acidity of solution and optimizing concentration ration of DC/NPDA, derivatization temperature, and time, a method for the determination of DC in workplace air was proposed, and its performance indexes such as linearity, detection limit, and lower limit of quantification were obtained. Sampling efficiency was evaluated by relative comparison method, and sample stability was evaluated by sample preservation test. Accuracy and precision of the method were evaluated by standard addition recovery test with blank samples, and an interference test was carried out by adding standard samples. The estab



DOI 10.11836/JEOM23073

## 基金项目

杭州市卫生科技计划项目(0020190983, A20230978); 杭州市农业与社会发展科研项目(20180533B95); 浙江省医药卫生科技计划项目(2016KYB241, 2018KY640)

## 作者简介

叶海朋(1986—), 男, 硕士, 副主任技师;  
E-mail: zjuyhp@163.com

## 通信作者

张磊, E-mail: 719453275@qq.com

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 2023-03-08

录用日期 2023-07-27

文章编号 2095-9982(2023)09-1079-06

中图分类号 R13

文献标志码 A

## 引用

叶海朋, 邵吉, 谈思维, 等. 工作场所空气中双乙酰的 4-硝基邻苯二胺柱前衍生-高效液相色谱测定方法 [J]. 环境与职业医学, 2023, 40(9): 1079-1084.

## 本文链接

[www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM23073](http://www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM23073)

## Funding

This study was funded.

## Correspondence to

ZHANG Lei, E-mail: 719453275@qq.com

Editorial Board Members' authorship No

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2023-03-08

Accepted 2023-07-27

## To cite

YE Haipeng, SHAO Ji, TAN Siwei, et al. Determination of diacetyl in workplace air by high performance liquid chromatography using 4-nitro-o-phenylenediamine as precolumn derivatization[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2023, 40(9): 1079-1084.

## Link to this article

[www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM23073](http://www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM23073)

lished method was applied to actual samples to evaluate its adaptability.

**[Results]** A combination of 60 °C for 2 h was selected for derivatization because a higher derivatization reaction temperature and a longer reaction time associated with a higher derivatization efficiency. The solution was separated by SB-C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) at 30 °C, using a mixture of methanol and water (v/v, 65%/35%) as mobile phase with an elution flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and was detected with a variable wavelength detector ( $\lambda_{\max}$ =257 nm) by qualitative analysis based on retention time and quantitative analysis based on external standard method. In terms of the proposed method, the linear range of detection was from 5 μg·L<sup>-1</sup> to 2000 μg·L<sup>-1</sup>, with a correlation coefficient of 0.9999, and a detection limit of 1.3 μg·L<sup>-1</sup>, the quantitative detection of the lower limit was 4.3 μg·L<sup>-1</sup>, with a sampling volume  $V_0$  of 3.0 L, the minimum detection concentration was 4.3 μg·m<sup>-3</sup>, and the minimum quantitative concentration was 14.3 μg·m<sup>-3</sup>. The recovery rate was 99.1%-100.8%, the intra-batch precision was 0.5%-3.0%, and the inter-batch precision was 1.2%-2.0%. The average sampling efficiency of this method was 94.5%, and the sample could be stored at 4 °C for at least 14 d. The coexisting components in the air of the workplace did not interfere with the determination of DC. The DC content in the air of a flavor workplace was 5.86-8.85 mg·m<sup>-3</sup>.

**[Conclusion]** A determination method for DC in workplace air by high performance liquid chromatography using NPDA as precolumn derivatization after being collected by 1.0% phosphoric acid absorbent is proposed and has the advantages of simple operation, high sensitivity, and good accuracy. With no DC loss and degradation, the method may satisfy the request for DC determination in the air of workplace.

**Keywords:** precolumn derivatization; high performance liquid chromatography; 4-nitro-o-phenylenediamine; diacetyl

双乙酰(diacetyl, DC), 又称 2,3-丁二酮、丁二酮, 在食品烘焙和发酵过程中都会产生, 具有黄油独特的风味, 是一类非常重要的风味物质, 工业上经常将人工合成的 DC 作为调味剂用于食品生产加工<sup>[1]</sup>。

DC 具有高蒸气压使其具有高挥发性, 在人工调味剂生产、使用或食品发酵酿造环境中, 会产生高浓度的 DC 蒸气易被工作人员吸入。已有报道<sup>[2]</sup>表明暴露于 DC 的员工出现严重的呼吸系统疾病和肺功能下降, 且高浓度 DC 会引起闭塞性细支气管炎<sup>[3]</sup>, 这是一种罕见的、不可逆转的肺部疾病<sup>[4]</sup>, 可对接触人员身体健康造成严重危害。

美国国家职业安全健康研究院(National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH)推荐<sup>[5]</sup>DC 的短时间接触允许浓度(short-term exposure limit, STEL)为 0.095 mg·m<sup>-3</sup>, 8 小时时间加权平均浓度(time-weighted average for up to 8 hours, 8 h-TWA)为 0.019 mg·m<sup>-3</sup>, 并提出了相应的实验室检测方法。NIOSH 最早的监测方法, 以(150/75 mg)活性炭采样-气相色谱/火焰离子化检测器检测空气中 DC<sup>[6]</sup>, 该法采样受现场环境湿度影响很大, 检测值大大低于工作现场的真实浓度; 针对这一缺陷, 美国劳工部职业安全卫生管理局(Occupational Safety & Health Administration, OSHA)系列方法中的第 1012 号<sup>[7]</sup>以及改进的方法<sup>[8]</sup>以串联绝对干燥的硅胶管、低流速进行采样, 低浓度样品以 O-(2,3,4,5,6-五氟苄基)羟胺盐酸盐衍生化 36 h 后以气相色谱-电子捕获检测器检测, 获得较好效果。NIOSH 研究人员进一步提出以串联硅胶采集、经解吸后以气相色谱/质谱检测<sup>[9]</sup>, 方法检出限为 1.1 ppb(即 4.2 μg·m<sup>-3</sup>)。以

上方法均存在采样要求苛刻、检测设备要求较高的问题。

我国尚未制定工作场所空气中 DC 的接触限值和标准检测方法, 现行的《职业病危害因素分类和目录》中也没有将 DC 列为职业病危害因素, 因此有必要研究工作场所空气中 DC 测定的标准检测方法, 对职业卫生防护具有重要的现实意义。DC 结构简单, 直接以紫外检测器检测的响应非常低, 无法实现准确检测。有害物质以气态、蒸气态或者气溶胶形式存在于空气中时, 可将装有吸收液的吸收管作为样品收集器, 当样品气流通过吸收液时, 吸收液气泡中的有害物质分子迅速扩散到吸收液内, 由于溶解或化学反应很快地被吸收液吸收, 达到采集目的, 可以基于此原理实现 DC 的溶液吸收法采集。4-硝基邻苯二胺(4-nitro-o-phenylenediamine, NPDA)作为一种精细化学品, 已被广泛应用于合成 2,3-二甲基-6-硝基喹啉类化合物(DC 与 NPDA 缩合产物, 简称为 DC-NPDA)<sup>[10]</sup>。该化合物具有很强的紫外吸收性, 相较于 NPDA, 其产物最大紫外吸收波长发生蓝移, 可基于此反应实现 DC 的定量检测。因此本研究在文献 [11] 研究的基础上, 提出以溶液吸收法采集 DC, 经 NPDA 衍生化得到单一产物 DC-NPDA, 再经高效液相色谱分离, 紫外检测器检测, 建立了工作场所空气中 DC 的检测方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

1260-Infinity II 型高效液相色谱仪(美国 Agilent); 色谱柱: SB-C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm); ME204/02

万分之一分析天平(瑞士 Mettler Toledo); G560E 漩涡振荡器(美国 Scientific Industries); 纯水仪(美国 Millipore)。

甲醇(色谱纯, 美国 Supelco); DC(含量  $\geq 99\%$  GC 级, 中国上海麦克林生化科技有限公司); NPDA(含量  $\geq 98\%$ , 中国上海 damas-beta 公司); 磷酸(85%~90% HPLC 级, 中国上海麦克林生化科技有限公司); 吸收液(1.0%体积浓度, 吸取磷酸 10 mL, 用二次去离子水稀释至 1 L, 备用)。实验用水均为二次去离子水。

## 1.2 样品采集、运输与保存

采样点位于香精香料生产车间, 选取相关岗位进行短时间采样, 用装有 10.0 mL 吸收液的多孔玻板吸收管, 以  $0.2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  流量采集 15 min 空气样品, 同时采集样品空白。采样后, 立即封闭采样管两端, 置于清洁容器内运输,  $4^\circ\text{C}$  冰箱冷藏保存。

## 1.3 样品处理

样品在测定前用吸收管中的吸收液洗涤进气管内壁 3 次, 全部转移至 10 mL 比色管中, 加入 0.10 mL NPDA 的甲醇溶液(浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 至  $60^\circ\text{C}$  水浴中反应 2 h。用  $0.45 \mu\text{m}$  针式滤器过滤后, 取 1 mL 滤液至进样小瓶, 待测。同时制备空白样品。于下述高效液相色谱条件测定, 由校准曲线计算得 DC 浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

## 1.4 仪器条件

对参考文献 [11] 的方法进行适当改进, 滤液进样量为  $20 \mu\text{L}$ , 经 SB-C18 柱分离, 柱温  $30^\circ\text{C}$ , 流动相为甲醇/水(体积比, 65%/35%)混合液, 流速为  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 紫外检测器波长为  $257 \text{ nm}$ 。

## 1.5 磷酸浓度选择

用系列浓度的磷酸溶液配制  $1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  DC, 考察磷酸浓度对衍生化的影响。本研究设计反应体系磷酸浓度依次为 0.005、0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、1、5、10%, 按照样品进行处理, 每个条件重复三次独立实验。

## 1.6 反应试剂比例选择

用 1%磷酸溶液配制  $1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DC 标准溶液, 取 10 mL 分别加入不同体积的浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 NPDA, 使 DC 与 NPDA 物质的量比例为 1:1 至 1:20, 按照样品处理并进行实验。

## 1.7 反应温度和时间优化

用 1%磷酸溶液配制  $1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DC 标准溶液, 分别取 10 mL 后再加入 0.10 mL NPDA, 按照样品处理。本研究采用  $3 \times 9$  析因试验设计优化反应温度和时间, 取 27 组样品分别按照温度(30、45、 $60^\circ\text{C}$ )和时间(10、20、30、40、50、60、70、120、150 min)进行处理并进

行试验。

## 1.8 绘制标准曲线

准确称取约 1.0000 g DC, 于棕色容量瓶中加 1.0%磷酸定容至 10 mL, 再稀释配制成浓度为  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的储备液, 放于  $4^\circ\text{C}$  冰箱中保存, 可保存 3 个月。临用时再以吸收液稀释, 配制浓度为 0、5、50、250、750、1000、1500、2000  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DC 标准系列工作液, 再以“1.3”所述样品衍生条件处理并在“1.7”所述仪器条件下测定, 外标法绘制标准曲线。

## 1.9 性能指标试验

取接近空白的 DC 吸收液按照“1.3”方法处理, 连续测定 11 次, 计算标准偏差, 以 3 倍标准偏差计算本方法检出限和最低检出浓度, 以 10 倍标准偏差计算本方法定量限和最低定量浓度。

以加标回收率来考察准确度, 以相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)来表示精密度。取 18 份空白吸收液分成 3 组, 每组 6 份样品, 分别加入 DC 标准溶液, 制成低、中、高三种浓度加标样品, 按“1.3”方法处理, 当天测定计算加标回收率与批内精密度; 在 2~7 d 内测定 6 次, 代入当日制作的标准曲线计算含量, 计算批间精密度。

## 1.10 采样效率试验

按“1.8”所述, 用甲醇稀释配制  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  标准储备液。在 5 L 集气袋内加入一定量标准储备液用氮气稀释后,  $45^\circ\text{C}$  烘箱放置半小时, 配制高、中、低浓度的 DC 实验用气, 串联三支分别装有 10 mL 吸收液的多孔玻板吸收管, 以  $0.2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  的流量采样 15 min, 测定前、后管中 DC 浓度, 计算采样效率。

## 1.11 样品稳定性试验

取 30 份空白吸收液分成 5 组, 每组 6 份样品, 分别加入 DC 标准溶液, 制成浓度为  $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  加标样品, 置于  $4^\circ\text{C}$  保存, 按“1.3”方法处理并测定当天及第 3、5、7、14 d 时样品浓度, 计算下降率以表征样品的稳定性。

## 1.12 干扰试验和方法应用

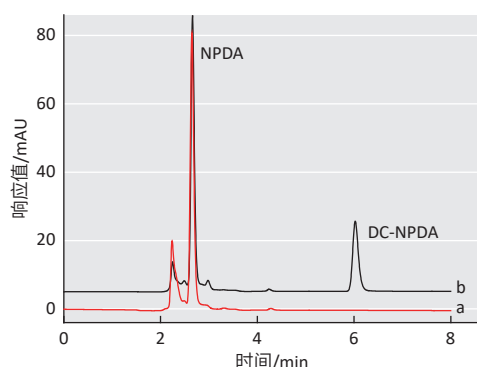
在香精香料生产制造车间, 可能存在 DC 前体物质乙偶姻和 DC 替代物 2,3-戊二酮<sup>[5]</sup>, 这两种物质与本研究使用的 NPDA 发生反应。吸收液中 DC 浓度为  $1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 将 4 倍浓度的乙偶姻和 2,3-戊二酮标准溶液添加至吸收液中, 按“1.3”方法处理并测定衍生化产物。

为验证方法实用性, 利用所建立的方法采集并分析某香料制造车间 3 个岗位空气中 DC 浓度。

## 2 结果

### 2.1 分离条件的选择

DC 气体被磷酸溶液吸收后, 由于氢键作用保持较长的稳定性。在 320~600 nm 波长范围内扫描 DC、NPDA 及 DC-NPDA 溶液, 在 257 nm 时 DC 的紫外吸收非常弱, NPDA 及 DC-NPDA 衍生物均有较强紫外吸收, 在选定的色谱条件下, NPDA 保留时间为 2.661 min, DC-NPDA 衍生物的保留时间为 6.025 min, 表明本实验选择色谱条件下, 衍生化试剂和产物能够有效分离, 互不干扰, 见图 1。



[注] a: 空白; b: 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  DC 标准溶液。

图 1 NPDA 及 DC-NPDA 的标准色谱图

Figure 1 Chromatograms of NPDA and DC-NPDA

### 2.2 衍生化反应磷酸浓度

结果如图 2 所示: 在低浓度磷酸时 DC 的衍生化效率较低, 至 0.05% 时衍生化效率逐渐升高, 浓度为 1.0% 时衍生化效率最高, 而后基本无变化。因此, 为获得满意结果并较少后续调节体系 pH 的操作, 本研究选择浓度 1.0% 磷酸溶液为采样吸收液, 采集样品后直接进行衍生化。

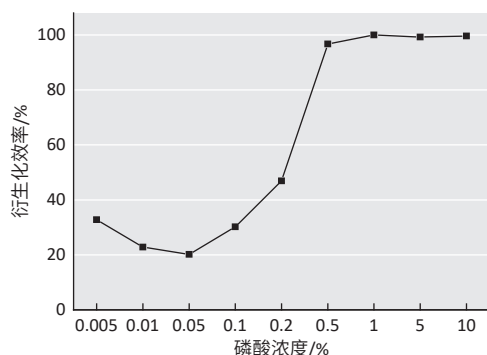


图 2 反应体系磷酸浓度对衍生化效率的影响

Figure 2 Effect of acidity of solution on derivatization efficiency

### 2.3 衍生化反应试剂比例

结果如图 3 所示: DC 与 NPDA 两者反应比例在 1:1~1:6 之间, 衍生化效率随着 NPDA 的增加而迅速

升高, 至 1:6 时衍生化效率最高, 然后基本保持不变。因此选择两者的反应比例为 1:6, 即添加 0.10 mL NPDA 作为本研究衍生化试剂。

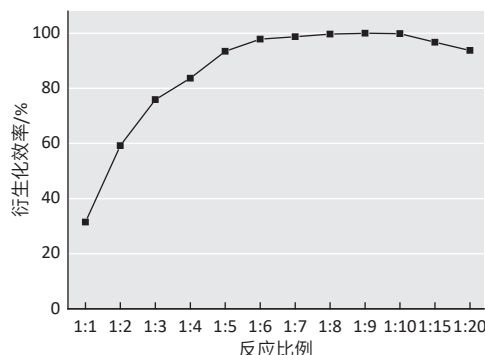


图 3 DC 与 NPDA 的比例对衍生化效率的影响

Figure 3 Effects of NPDA/DC on derivatization efficiency

### 2.4 衍生化反应温度和反应时间

从图 4 可以看出, 温度越高、反应时间越长, 则衍生化效率越高。选择 60 °C 作为反应温度, 在 60 min 内, 衍生化反应效率随时间增加而快速增加, 延长反应时间衍生产物增加缓慢, 至 2 h 基本无变化。因此, 本实验选择将吸收液在 60 °C 时衍生化反应 2 h。

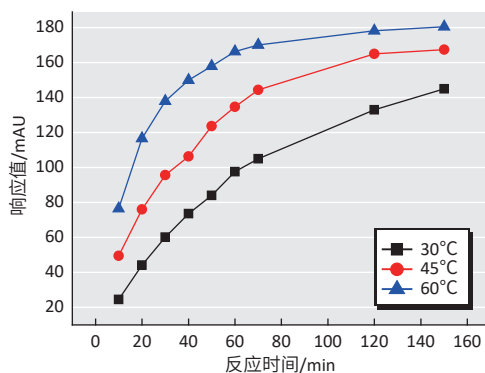


图 4 反应温度与时间对衍生化效率的影响

Figure 4 Effects of reaction temperature and time on derivatization efficiency

### 2.5 检出限与校准曲线

11 份接近空白的 DC 吸收液处理后测定, 经过计算, 标准偏差为  $0.43 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 以 3 倍标准偏差计算本方法检出限为  $1.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 最低检出浓度为  $4.3 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ , 以 10 倍标准偏差计算本方法定量限为  $4.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 最低定量浓度为  $14.3 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$  (以采样量为  $V_0=3.0 \text{ L}$  计)。在上述处理条件和仪器工作条件下, DC 校准曲线范围为 5~2000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 线性回归方程为  $A=0.184c-0.022$ , 相关系数系数  $r$  为 0.999 9, 线性关系良好, 满足检测要求。

### 2.6 回收率和精密度

实验结果见表 1, 空白吸收液未检出 DC, 三种加

标质量浓度条件下的样品平均加标回收率为 99.1%~100.8%, 批内精密度为 0.5%~3.0%, 批间精密度为 1.2%~2.0%, 均小于 10%, 结果显示本方法回收率高, 精密度良好, 可以用于工作场所空气中 DC 的准确定量。

表 1 批内/批间精密度试验结果 (n=6)  
Table 1 Intra-batch/inter-batch precision test results (n=6)

| 加标浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) | 测定值<br>( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) | 加标回收率/%           | RSD/% |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------|-------|
| 批内                                       | 100                                                       | 100.8 $\pm$ 2.5   | 100.8 |
|                                          | 500                                                       | 495.6 $\pm$ 14.7  | 99.1  |
|                                          | 1000                                                      | 1003.1 $\pm$ 4.9  | 100.3 |
| 批间                                       | 200                                                       | 199.7 $\pm$ 4.0   | 99.9  |
|                                          | 600                                                       | 602.0 $\pm$ 6.9   | 100.3 |
|                                          | 1500                                                      | 1507.8 $\pm$ 23.2 | 100.5 |

[注] RSD 为相对标准偏差。

2.7 采样效率

从采气袋内采集实验用气, 按本法测定前、后管中 DC 浓度, 结果显示, 高、中、低三种浓度 DC 实验用气采样效率分别为 92.3%、96.3%、95.0%, 计算平均采样效率为 94.5%, 采样效率较高, 见表 2。

表 2 采样效率测定结果  
Table 2 Sampling efficiency test results

| 加入量/ $\mu\text{g}$ | 采样体积/L | 前管测定值/ $\mu\text{g}$ | 后管测定值/ $\mu\text{g}$ | 采样效率/% |
|--------------------|--------|----------------------|----------------------|--------|
| 0.2                | 3.0    | 0.19                 | 0                    | 95.0   |
| 3.0                | 3.0    | 2.89                 | 0                    | 96.3   |
| 12.0               | 3.0    | 11.08                | 0                    | 92.3   |

2.8 样品稳定性

以  $600 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  为本组试验起始浓度, 计算下降率。结果显示, 样本在  $4^\circ\text{C}$  冰箱保存 14 d 后, DC 浓度下降仅 2.8%, 下降率  $< 10\%$ , 结果见表 3。因此样品在  $4^\circ\text{C}$  至少能保存 2 周。

表 3 DC 样品稳定性试验结果  
Table 3 DC sample stability test results

| 保存时间/d | 测得浓度( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) | 下降率/% |
|--------|--------------------------------------------------------|-------|
| 3      | 599.5 $\pm$ 10.8                                       | 0.1   |
| 5      | 597.2 $\pm$ 9.4                                        | 0.5   |
| 7      | 588.9 $\pm$ 4.4                                        | 1.9   |
| 14     | 583.0 $\pm$ 3.3                                        | 2.8   |

2.9 干扰试验

在本实验优化的条件下, DC 及干扰物的色谱分离如图 5 所示。由于乙偶姻与 NPDA 反应无喹喔啉环状结构, 在本实验的色谱条件下未见衍生化产物吸收峰;

2,3-戊二酮与 NPDA 反应生成两种同分异构体的喹喔啉环状产物, 紫外吸收峰在  $t=10 \text{ min}$  处, 不干扰 DC 衍生化产物的出峰。因此, 在优化的色谱条件下, 可能存在的干扰物与被检测物能够完全分离, 不干扰 DC 的测定。

2.10 实际样品测定

依照本法, 分别采集原料配制、产品搅拌、成品包装 3 个岗位空气中 DC, 测定其浓度依次为  $5.86$ 、 $6.37$ 、 $8.85 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 。

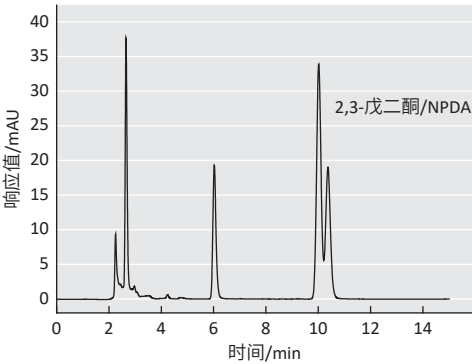


图 5 干扰试验  
Figure 5 Interference test

3 讨论

DC 的化学性质活泼, 是工业上合成喹喔啉环状化合物的原料之一, 一般在催化剂作用下完成, 且需要较高的反应温度、强酸性介质和较长的反应时间。使用高效液相色谱法检测 DC, 需将其衍生化处理增加发色基团, 通常使用的衍生化试剂有邻苯二胺<sup>[12]</sup>以及苯环取代的 4,5-二氯邻苯二胺<sup>[13]</sup>、4-甲氧基邻苯二胺<sup>[14]</sup>和 NPDA<sup>[11]</sup>等, 它们都具有灵敏度高、选择性好、在水溶液中完成反应的优点。NPDA 在苯环上含硝基取代基团, 这使其在紫外和可见光波段都具有更强的吸收性, 使得衍生化反应生成的 6-硝基喹喔啉衍生物具有较强的紫外吸收, 因此, 以 NPDA 作为本研究的衍生化试剂。由于 DC 与 NPDA 反应是可逆反应, 本研究优化了衍生化反应体系酸度、DC/NPDA 的浓度比、反应温度和时间, 确定了最佳条件。

本研究建立了一种以磷酸水溶液为吸收液、用多孔玻板吸收管采集、柱前衍生化-高效液相色谱测定工作场所空气中 DC 的方法。以溶液吸收法采集样品, 避免了 OSHA 方法<sup>[8]</sup>中提到的采样现场环境湿度大影响固体吸附剂容量的影响, 且使用职业病防治机构实验室普遍配置高效液相色谱-紫外检测器完成检测, 大大提高了工作效率。本法最低检出浓度为  $4.3 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$

(以采样体积  $V_0=3.0$  L 计), 表明本研究方法的性能达到 NIOSH 推荐检测方法<sup>[7]</sup>的要求。将本研究建立方法应用于香精生产企业车间采样, 表明工作场所空气常见共存成分不干扰 DC 的测定。

DC 未纳入国内职业病危害因素监测目录, 本研究选取的香精生产企业工作场所空气 DC 浓度远高于 NIOSH 的限值, 国内由 DC 致呼吸系统疾病已有报道<sup>[15]</sup>, 提醒企业对其危害应引起重视, 要加强工程防护措施, 及时开展健康宣教, 督促劳动者做好个人防护, 预防职业病发生。相关职能部门也应尽快制定适用的职业健康接触限值和检测方法, 完善职业健康检查项目及职业病诊断标准, 督促监管部门加强监管, 全面保障劳动者的健康。

本法各项指标均满足 GB/Z 210.4—2008《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测定方法》的要求。与现有方法<sup>[7]</sup>相比, 采样操作简单, 样品稳定性好, 分析速度快、重复性好、准确度高, 兼具适用性和实用性, 可以为工作场所空气中 DC 暴露的健康效应研究提供技术支持。

## 参考文献

- [1] STAREK-ŚWIECHOWICZ B, STAREK A. Diacetyl exposure as a pneumotoxic factor: a review[J]. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 2014, 65(2): 87-92.
- [2] WANG J, KIM SY, HOUSE E, et al. Repetitive diacetyl vapor exposure promotes ubiquitin proteasome stress and precedes bronchiolitis obliterans pathology[J]. *Arch Toxicol*, 2021, 95(7): 2469-2483.
- [3] AKPINAR-ELCI M, TRAVIS WD, LYNCH DA, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome in popcorn production plant workers[J]. *Eur Respir J*, 2004, 24(2): 298-302.
- [4] BARKER AF, BERGERON A, ROM WN, et al. Obliterative bronchiolitis[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(19): 1820-1828.
- [5] The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Criteria for a recommended standard: occupational exposure to diacetyl and 2, 3-pentanedione[R/OL]. (2016-10-27)[2022-01-24]. <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2016-111/default.html>.
- [6] NIOSH. Diacetyl: Method 2557[EB/OL]. [2016-05-20]. <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/2557.pdf>.
- [7] EIDE M E. Acetoin: Diacetyl (OSHA Method 1012)[EB/OL]. [2016-05-20]. <https://www.osha.gov/sites/default/files/methods/osha-1012.pdf>.
- [8] SHAH Y C. Diacetyl (OSHA Method PV2118)[EB/OL]. [2016-05-20]. <http://niosh.dnaci.com/nioshdbbs/oshameth/t-pv2118/t-pv2118.html>.
- [9] LEBOUF R, SIMMONS M. Increased sensitivity of OSHA method analysis of diacetyl and 2, 3-pentanedione in air[J]. *J Occup Environ Hyg*, 2017, 14(5): 343-348.
- [10] JAFARPOUR M, REZAEIFARD A, DANEHCIN M. Easy access to quinoxaline derivatives using alumina as an effective and reusable catalyst under solvent-free conditions[J]. *Appl Catal A Gen*, 2011, 394(1/2): 48-51.
- [11] LI P, ZHU Y, HE S, et al. Development and validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of diacetyl in beer using 4-nitro-*o*-phenylenediamine as the derivatization reagent[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(12): 3013-3019.
- [12] RAMOS RM, PACHECO JG, GONÇALVES LM, et al. Determination of free and total diacetyl in wine by HPLC-UV using gas-diffusion microextraction and pre-column derivatization[J]. *Food Control*, 2012, 24(1/2): 220-224.
- [13] LANDAUD S, LIEBEN P, PICQUE D. Quantitative analysis of diacetyl, pentanedione and their precursors during beer fermentation by an accurate GC/MS method[J]. *J Inst Brew*, 1998, 104(2): 93-99.
- [14] OJEDA AG, WROBEL K, ESCOBOSA AR C, et al. High-performance liquid chromatography determination of glyoxal, methylglyoxal, and diacetyl in urine using 4-methoxy-*o*-phenylenediamine as derivatizing reagent[J]. *Anal Biochem*, 2014, 449: 52-58.
- [15] 胡博骅, 黄小萍, 余肖馨, 等. 双乙酰接触相关气道功能障碍2例[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2023, 41(3): 222-224.
- HU B H, HUANG X P, YU X P, et al. Two cases of airway dysfunction related to diacetyl exposure[J]. *Chin J Ind Hyg Occup Dis*, 2023, 41(3): 222-224.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)