

乙醛环境检测和生物检测方法的研究进展

张志虎(综述), 邵 华(审校)

(山东省劳动卫生职业病防治研究所, 山东 济南 250062)

摘要: 乙醛广泛存在于环境中, 危害人体健康。为免遭其害, 人们建立了众多的检测方法。本文在综述这些检测方法的基础上, 对其进行了评价。

关键词: 乙醛; 检测方法

中图分类号: O623. 511 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)04-0249-03

Progress in methods for detecting acetaldehyde in environmental and biological samples

ZHANG Zhi-hu, SHAO Hua

(Shandong Provincial Institute of Labor Health and Occupational Diseases, Jinan 250062, China)

Abstract: Acetaldehyde almost exists ubiquitously and is harmful to people. Many methods for determining it have been developed in order to protect people from its harm. In this paper, these methods are summed up and evaluated, as well as the development of the methods for its detection in the future are explored.

Key words: Acetaldehyde; Detection

乙醛广泛存在于室内外环境中, 其来源可以分为内源性和外源性。内源性来源主要是指体内脂质的氧化和过氧化、一些氨基酸的代谢、乙醇在体内的代谢等均可产生乙醛。外源性乙醛主要来自于香水等生活用品、建筑装饰材料、工业生产活动、机动车尾气、烹调油烟、香烟烟雾等; 方家龙等^[1]报道很多食物如苹果、黄瓜、酒精类饮料、醋中也含有乙醛; 空气中碳氢化合物在光化学作用下也可以生成乙醛^[2]。乙醛的一般毒性主要表现为对皮肤、眼睛和上呼吸道黏膜的直接刺激症状, 使痰增多, 眼充血红肿, 引起过敏、头痛等。吸入高浓度的乙醛则会引起窒息, 甚至呼吸麻痹而死亡。研究表明乙醛具有遗传毒性, 活泼的醛基使得它们不需经过代谢就能攻击亲核基团, 能够与 DNA 共价结合形成加合物, 引起 DNA 链间交联、DNA 断裂等^[3]。乙醛还能影响胚胎的发育^[4,5], 当最低试验浓度为 1.323 g/m^3 时, 能诱发大鼠鼻癌^[1]。

随着生活水平的提高和卫生意识的增强, 人们越来越关注乙醛的存在。本文综述了乙醛的检测方法, 并对其进行了评价和探索。

1 乙醛的环境检测方法

1.1 荧光法

刘光明等^[6]研究了醛类化合物的荧光测定法, 他们以丙醇为吸收剂进行采样, 将样品与荧光剂等体积混合, 在 pH6.0 的体系中, 57°C 下反应 15 min, 在 $\lambda_{\text{ex}} = 436 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 504 \text{ nm}$ 处测反应产物的荧光强度, 从而确定油烟气中的醛类化合物含量。该法检出限为 $9.3 \times 10^{-4} \mu\text{g/ml}$, 测定范围为 $0.005 \sim 1.000 \mu\text{g/ml}$ 。

1.2 电色谱法

Fung 等^[7]将电色谱和质谱联用以测定甲醛、乙醛、丙烯醛等 14 种醛、酮化合物。流动相为 $V(\text{甲醇}) : V(\text{乙腈}) : V(\text{水缓冲液}) (4 \text{ mmol/L 乙酸铵}) = 65 : 5 : 30$ 。操作条件: 在 5 kV 进样 2 s, 缓冲液 pH 值调为 8, 应用电压控制在 25 kV, 360 nm 处检测。在采样流量 0.3 L/min 、采样 1 h 的情况下, 检测范围 $0.030 \sim 11.000 \text{ mg/L}$, 检测限 $0.011 \sim 0.084 \text{ mg/m}^3$ 。

1.3 气相色谱法

1.3.1 气相色谱-氮磷检测器 (GC-NPD) 法 Shiraishi 等^[8]应用气相色谱-氮磷检测器进行自动、持续、低浓度醛类化合物分析。空气经过含有酸性 2, 4-二硝基苯肼 (DNPH) 的硅胶管, 其中的醛类化合物和 DNPH 反应形成相应的腙。经过洗提, 进入 GC 分离, NPD 测定。此方法具有高度重现性, 相对标准差小于 3.0%, 回收率 88% ~ 101%; 检测限乙醛为 $2.35 \times 10^{-3} \text{ mg/m}^3$ 。Suliman 等^[9]进一步发展了全自动固相萃取气相色谱程序, 回收率在 85% 以上, 检测限乙醛为 $5.29 \times 10^{-3} \text{ mg/m}^3$ 。

1.3.2 气相色谱-质谱 (GC-MS) 法 McCleny 等^[10]用固体吸附剂 (石墨碳和碳分子筛结合) 对空气中的醛类化合物进行采样, 然后解吸进入 GC 分离, MS 分析。该法检测限为 $0.98 \times 10^{-3} \text{ mg/m}^3$ 。

1.3.3 气相色谱-火焰离子化检测器 (GC-FID) 法 空气中乙醛的溶剂解吸气相色谱测定方法 (GB/T17074-1997) 中, 将空气中的乙醛用硅胶管以 0.1 L/min 流量采集 10 min, 水解吸后进样, 经 FFAP 柱分离, 氢火焰离子化检测器检测, 以保留时间定性, 峰面积定量。该法检出限为 $5 \times 10^{-3} \mu\text{g}$ (进样体积 $2.0 \mu\text{L}$), 最低检出浓度为 5.0 mg/m^3 (采 1 L 空气样品), 线性范围 $10.0 \sim 900.0 \mu\text{g/ml}$, 相对标准偏差为 2.9% ~ 5.2%。徐伯洪等^[11]将乙醛直接进样检测, 经聚乙二醇 20 m 色谱柱分离, 氢火焰离子化检测器检测, 该法的最低检出浓度为 0.3 mg/

收稿日期: 2003-12-02; 修回日期: 2004-02-23

基金项目: 山东省自然科学基金资助 (Y2002C30)

作者简介: 张志虎 (1973-), 男, 山东省济宁市人, 劳动卫生与环境卫生专业在读硕士。

m³。

1.4 高效液相色谱法

1.4.1 高效液相色谱-质谱 (HPLC-MS) 法 根据所用衍生试剂的不同, 分析过程略有差异。Sakunagawa 等^[12]用 DNPH 作试剂来分析甲醛、乙醛、丙烯醛, 经沃特斯 Sep-Pak C₁₈ 过滤柱收集, 和柱上浸渍的 DNPH 反应生成相应的腙, 然后用乙腈洗提。注入流动相为 $V(\text{乙腈}):V(\text{水})=60:40$ 的 HPLC-MS 中, 进行分离测定。此方法能提供低于 ppb 级的灵敏度, 且有很好的重复性, 相对标准差为 1%~3%, 适用于实验室、办公室等工作场所空气中的醛类化合物检测。Kempter 等^[13]用 4-二甲氨基-6-(4-甲氧基-1-萘)-1, 3, 5-三嗪-2-胍 (DMNTH) 作试剂。DMNTH 和空气中的醛类化合物反应, 生成相应的腙, 经 HPLC 分离、MS 检测, 检测范围 $2 \times 10^{-8} \sim 5 \times 10^{-8}$ mol/L。此方法可检测烃链长度从 1~7 个碳原子的饱和醛及一些不饱和醛、芳香醛。

1.4.2 高效液相色谱-紫外检测器 (HPLC-UV) 法 Sandner^[14]等用 DNPH 作衍生试剂和空气中的醛类化合物反应, 经洗提, 然后用 HPLC-UV/DAD 进行分离分析。为了降低检测限, 增加了采样体积和速率, 并尝试应用多种吸附材料, 降低衍生腙的萃取体积, 用 RP18 柱分离, 在 365 nm 波长处检测。该法的回收率为 70%~100%, 检测限为 0.05~0.4 mg/m³。Possanzini 等^[15]用 1-甲基-1-(2, 4-二硝基苯) 胍 (MDNPH) 作衍生试剂, 用浸渍有 MDNPH 的硅胶管采样, 空气中的醛和其反应生成相应的腙, 洗提后用 HPLC 分离, 在 UV360 nm 测定。此法检测限乙醛为 1.57×10^{-3} mg/m³ (采样 30 L)。现场相对湿度对采样没有影响。Buldt 等^[16]以 *N*-甲基-4-胍-7-硝基咪唑 (MNBDH) 作衍生试剂测空气中的醛类化合物。他们用浸渍有 MNBDH 和磷酸的玻璃纤维滤器采样, 采样速率为 24.7 ml/min。形成的腙用乙腈解吸, 然后用 HPLC 分离、紫外/可见检测器在 474 nm 处测定。该法相对标准偏差为 7%, 检测限为 70 mg/m³ (采样 15 min)、2 mg/m³ (采样 8 h)。

1.4.3 高效液相色谱-二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 法 Levart 等^[17]使用低温采样技术, 把酸化的 DNPH 溶液注入采样器在液氮中冷却, 然后采样, 通过 HPLC-DAD 分离、测定衍生的腙。以此来分析空气中的乙醛。

随着人们对乙醛存在的关注及其检测方法的完善, 我国制订了工作场所空气中乙醛的职业接触限值, 最高容许浓度为 45 mg/m³ (美国 ACGIH 规定的最高容许浓度为 25 ppm)。

2 乙醛的生物检测

人体内的乙醛 (包括外界进入的和内生的) 有多种代谢途径: 一是经肺直接呼出; 二是进入尿液被排出; 三是与体内组织蛋白质、细胞 DNA 反应形成加合物而贮存在体内; 四是在肝脏和红细胞中的醛脱氢酶、醇脱氢酶的催化下, 生成乙酸。乙酸主要有 3 个代谢途径: 一是由尿液排出; 二是形成乙酰辅酶 A, 参予三羧酸循环和氧化磷酸化, 生成二氧化碳和水, 并释放能量; 三是进入生物合成途径。根据其代谢途径的不同, 其检测方法也有不同。

2.1 加合物的检测

乙醛和 DNA 反应, 生成亚乙基脱氧鸟苷等加合物, Wang 等^[18]用高效液相色谱分离加合物, 通过紫外检测器、核磁共振、质谱来分析形成的几种加合物。可以通过测定生物样品中加合物的量来推断乙醛的接触情况。但由于加合物的测定需要血液或组织细胞, 有一定伤害性, 对实验技术条件和设备要求高, 定量较困难, 难以建立一个好的量化测定普通人群暴露水平的方法^[19], 故其广泛应用受到很大限制。

2.2 乙醛脱氢酶多态性的检测

到目前为止, 发现乙醛脱氢酶有 16 种同工酶, 而每种同工酶又有多个基因型, 如乙醛脱氢酶 2 的基因型为 ALDH21/ALDH21、ALDH21/ALDH22 和 ALDH22/ALDH22。这就使乙醛脱氢酶具有了多态性, 因而对乙醛代谢的能力也有差异^[20]。薛开先报道, 乙醛脱氢酶的等位基因型 ALDH2 (2) (即 ALDH22/ALDH22) 使乙醛易在体内积累, 可使癌易感性增加^[21]。Nakajima 等^[22]研究了酶的多态性与疾病的易感性, 认为和个体差异有关, 酶的多态性影响个人对化学物质的易感性。由以上可以看出, 乙醛脱氢酶的多态性造成了机体对乙醛代谢能力的差异, 而我们可以通过检测酶的基因型的不同, 来判断人们是否适宜从事接触醛类化合物的工作, 即醛脱氢酶可以作为醛类化合物职业禁忌证的易感指标。醛脱氢酶基因多态性的检测方法, 包括如下步骤: 限制性内切酶对目的基因片段进行切除、PCR 扩增、溶解、电泳、UV 成像对核苷酸序列进行测定来确定基因型。

2.3 血液中乙醛的检测

Ohata^[23]等用气相色谱衍生化技术测血中乙醛, 2, 4-二硝基苯胍与乙醛反应, 生成 2, 4-二硝基苯腙, 然后用气相色谱进行分离, 电子捕获检测器检测。该法灵敏度可达 500 fmol, 回收率为 96.5%。血液中乙醛浓度易受体内外各种因素的影响 (如饮酒、体内脂质的氧化和过氧化均可产生乙醛), 收集时机的选择难度较大、要求较高; 由于有一定的损伤, 自愿参加率较低, 阻碍了此方法的发展。Eniksson 等^[24]也认为, 醛类化合物和蛋白质的反应决定了血液不是一个理想的生物样品。

2.4 呼出气中乙醛的检测

Lin 等^[25]用高效液相色谱-紫外/可见检测器分析呼出气中的甲醛、乙醛等。他们用 Douglas 袋收集实验对象呼出的气体, 然后一定体积的气体被转到 Tedlar 袋, 后者中的气体经过浸渍 2, 4-二硝基苯胍 (DNPH) 的硅胶管, 收集气中的醛类化合物和 DNPH 反应生成相应的腙, 用乙腈洗提, 进样 20 μ L, 液相色谱分离, 在紫外/可见检测器 360 nm 处测定。该方法检测限为 7 pmol (信噪比 7/1), 回收率都超过了 90%。呼出气采样方便, 无损伤, 试验者易接受, 是一种可行的检测方法。通过测定呼出气中的乙醛, 可以全面评价个人接触情况。呼出气中乙醛的浓度受个人生活习惯的影响较大, 如饮酒、吸烟、用药等, 特别是呼出气中乙醛浓度在饮酒后将急剧增加^[26]。因此, 以呼出气为生物检测的样品, 应特别关注

个人生活习惯。

2.5 尿中乙酸的检测

人体暴露于乙醛后,尿液中的乙酸将增多,可以通过检测尿中的乙酸来评价人们的接触情况。乙酸的检测方法较多,有液相色谱法、气相色谱法、毛细管电泳法、电位序滴定分析法等,但尿中乙酸的检测方法未检索到。与其他生物样品相比,尿液的收集方便、省时,不受外界环境变化的影响,成分稳定,并且此法对人体无伤害,是很理想的生物检测样品。这应该是我们生物检测研究的方向。

生物检测考虑了空气中乙醛浓度的变化和接触者在工作场所的移动,还考虑了多种吸收途径——呼吸道、皮肤、消化道,也考虑了职业和非职业因素以及各种理化的和毒代动力学的因素,如工作负荷(影响吸收)、乙醛代谢的能力(吸收、分布、生物转化)和个体易感性;它还可以评价防护措施的应用,是一种理想的综合评价乙醛暴露情况的方法;它比空气中乙醛的检测更能全面地反映人们的实际接触情况。但这一领域的研究较少,情况较复杂,对实验条件要求较高。乙醛的生物检测存在的主要问题是,乙醛生物半衰期较短,不易检测;内生乙醛及其代谢产物的干扰;外部因素如饮酒、吸烟等都可使吸入体内的乙醛增多,从而影响乙醛及其代谢物的生物检测。在今后的研究中要全面考虑各种因素对生物样品的影响,应特别注意外部干扰因素的控制。

参考文献:

- [1] 方家龙,刘玉瑛.乙醛及其毒性[J].国外医学卫生学分册,1996,23(2):101-105.
- [2] Harley RA, Cass GR. Modeling the concentrations of gas-phase toxic air pollutants: Direct emissions and atmospheric transformation [J]. Environ Sci Technol, 1994, 28: 88-98.
- [3] 杨丹凤,裘著革,张华山,等.3种醛类化合物对DNA的交联生成作用[J].中国公共卫生学报,1999,18(2):110-111.
- [4] 屈卫东,王健,吴德生,等.乙醛对大鼠胚胎芽细胞增殖分化的影响研究[J].中国工业医学杂志,1999,12(1):16-18.
- [5] 屈卫东,张天宝,吴德生,等.乙醇及乙醛对胚胎发育的联合作用[J].中国药理学与毒理学杂志,2000,14(5):373-378.
- [6] 刘光明,王凯雄,臧荣春,等.餐饮业油烟气中醛类化合物的荧光法测定[J].环境污染与防治,1998,20(4):38-41.
- [7] Fung Y S, Long Y. Determination of carbonyl compounds in air by electrophoresis [J]. Electrophoresis, 2001, 22(11): 2270-2277.
- [8] Shiraishi T, Soma Y, Ishitani O, et al. Application of an integrated prepartition GC-NPD system to automated continuous measurement of formaldehyde and acetaldehyde in the atmosphere [J]. J Environ Monit, 2001, 3(6): 654-660.
- [9] Suliman F E, Soma Y. The determination of carbonyl compounds in air using a robotic sampling preparation system integrated to a gas chromatograph with a nitrogen-phosphorus detector [J]. J Environ Monit, 2000, 2(5): 470-475.
- [10] McClenry WA, Oliver KD, Jacumin HH Jr, et al. Ambient level

volatile organic compound (VOC) monitoring using solid adsorbents—recent US EPA studies [J]. J Environ Monit, 2002, 4(5): 695-705.

- [11] 徐伯洪,闫慧.工作场所有害物质检测方法[M].北京:中国人民公安大学出版社,2003.194.
- [12] Sakuragawa A, Yoneno T, Inoue K, et al. Trace analysis of carbonyl compounds by liquid chromatography-mass spectrometry after collection as 2,4-dinitrophenylhydrazine derivatives [J]. J Chromatogr A, 1999, 844(1-2): 403-408.
- [13] Kemper C, Zurek G, Karst U. Determination of carbonyls using liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization [J]. J Environ Monit, 1999, 1(4): 307-311.
- [14] Sandner F, Dott W, Hollender J. Sensitive indoor air monitoring of formaldehyde and other carbonyl compounds using the 2,4-dinitrophenylhydrazine method [J]. Int J Hyg Environ Health, 2001, 203(3): 275-279.
- [15] Possanzini M, Di Palo V. Simultaneous determination of HCHO, CH₃CHO and O₃ in ambient air by hydrazine reagent and hplc [J]. Ann Chim, 2003, 93(1-2): 149-156.
- [16] Buldt A, Lindahl R, Levin JO. A diffusive sampling device for the determination of formaldehyde in air using N-methyl-4-hydrazino-7-nitrobenzofuran (MNBDH) as reagent [J]. J Environ Monit, 1999, 1(1): 39-43.
- [17] Levart A, Veber M. Determination of aldehydes and ketones in air samples using cryotrapping sampling [J]. Chemosphere, 2001, 44(4): 701-708.
- [18] Wang M, McIntee EJ, Cheng G, et al. Identification of DNA adducts of acetaldehyde [J]. Chem Res Toxicol, 2000, 13(11): 1149-1157.
- [19] Olin KL, Cherr GN, Rifkin E, et al. The effects of some redox-active metals and reactive aldehydes on DNA-protein cross-links in vitro [J]. Toxicology, 1996, 110(1-3): 1-8.
- [20] 屈卫东,山县然太郎,吴德生,等.酒精代谢酶基因型在日本双生子中的分布[J].中华预防医学杂志,1999,33(2):88-90.
- [21] 薛开先.乙醇代谢酶遗传多态与癌易感性关系的研究[J].国外医学遗传学分册,2000,23(1):24-27.
- [22] Nakajima T, Aoyama T. Polymorphism of drug-metabolizing enzymes in relation to individual susceptibility to industrial chemicals [J]. Ind Health, 2000, 38(2): 143-152.
- [23] Ohata H, Otsuka M, Ohmori S. Determination of acetaldehyde in biological samples by gas chromatography [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1997, 693(2): 297-305.
- [24] Eirsson CJ. Problems and pitfalls in acetaldehyde determination [J]. Alcohol Clin Exp Res, 1980, 4: 22-29.
- [25] Lin Y, Dueker SR, Jones AD, et al. Protocol for collection and HPLC analysis of volatile carbonyl compounds in breath [J]. Clin Chem, 1995, 41(7): 1028-1032.
- [26] Jones AW. Measuring and reporting the concentration of acetaldehyde in human breath [J]. Alcohol and Alcoholism, 1995, 30(3): 271-285.