

职业性苯暴露反-反式粘糠酸生物接触限值研究

宋世震¹, 刘黎文¹, 陈醒觉², 付承红¹, 叶方立¹

(1. 武汉科技大学医学院劳动卫生教研室, 湖北 武汉 430080; 2. 武汉钢铁公司职业病防治所, 湖北 武汉 430080)

摘要: 目的 研究职业性苯暴露反-反式粘糠酸 (*t, t*-MA) 生物接触限值。方法 实验室建立生产环境空气中苯浓度的气相色谱检测方法及作业工人尿中 *t, t*-MA 含量的高效液相色谱检测方法, 并通过检测苯暴露现场工人 8 h 苯暴露水平及班前、班后尿中 *t, t*-MA 含量, 研究其相关性。结果 苯暴露者班前、班后尿中 *t, t*-MA 含量与其苯暴露水平有明显的相关关系。班前 Y (mg/gCr) = $0.924 + 0.108X$ (mg/m³), $r = 0.62$, $P < 0.01$; 班后 Y (mg/gCr) = $2.103 + 0.177X$ (mg/m³), $r = 0.791$, $P < 0.01$ 。结论 根据我国作业场所空气中苯的国家卫生标准, 按回归方程推导出职业接触苯生物接触限值, 推荐职业暴露苯的生物接触限值为工作班班后尿 *t, t*-MA 含量为 3.0 mg/gCr, 下一班班前尿 *t, t*-MA 含量为 1.5 mg/gCr。

关键词: 苯; 反-反式粘糠酸; 生物接触限值

中图分类号: R135.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2005)06-0328-03

Studies on biological limit of urine trans, trans-muconic acid for occupational exposure to benzene

SONG Shi-zhen¹, LIU Li-wen¹, CHEN Xing-jue², FU Cheng-hong¹, YE Fang-li¹

(1. Department of Occupational Health, Medical School of Wuhan University of Science & Technology, Wuhan 430080, China;

2. Institute of Occupational Health for Wuhan Iron and Steel Company, Wuhan 430080, China)

Abstract Objective To study the biological limit of urine trans, trans-muconic acid (*t, t*-MA) for occupational exposure to benzene. **Method** Laboratory methods for examining benzene in workplace air and urine level of *t, t*-MA in workers exposed to benzene were established by gas chromatograph and high performance liquid chromatograph. Level of exposure to benzene was evaluated by examining urine levels of *t, t*-MA during eight-hour work, before and after shift in workers exposed to benzene in a factory. Relationship between level of exposure to benzene and urine level of *t, t*-MA in workers was analyzed. **Result** Urine level of *t, t*-MA in workers exposed to benzene closely related to their exposure level. There was a close relationship between urine level of *t, t*-MA and level of exposure to benzene before and after shift in the workers, with regression equations and correlation coefficients of Y (mg/gCr) = $0.924 + 0.108X$ (mg/m³) and $r = 0.62$ ($P < 0.01$) and Y (mg/gCr) = $2.103 + 0.177X$ (mg/m³) and $r = 0.791$ ($P < 0.01$), respectively. **Conclusion** According to the national hygienic standard for benzene in workplace air, the biological limit of urine level of *t, t*-MA could be calculated as follows for recommended occupational exposure to benzene: 3.0 mg/gCr and 1.5 mg/gCr for workers exposed to benzene after and before shift, respectively.

Key words: Benzene; Trans, trans-muconic acid (*t, t*-MA); Biological exposure limit

目前我国仍采用作业场所空气浓度作为职业性苯接触的评价标准, 它不能客观、全面反映职业人群的实际接触情况, 而生物检测反映的是机体的内接触剂量, 可弥补上述不足。近十年来, 动物和人群研究结果表明, 机体尿中反-反式粘糠酸 (*t, t*-MA) 含量与苯接触水平具有明显的相关性^[1]。本研究通过对湖北某单位工人苯实际接触水平及其尿中 *t, t*-MA 含量进行检测并分析其相关性, 对 *t, t*-MA 作为职业苯接触

生物标志物及其限值进行初步探讨。

1 对象与方法

1.1 对象

苯接触工人 56 名, 男 30 名, 女 26 名, 年龄 19~43 岁, 平均年龄 (32.9±5.9) 岁, 平均工龄 (9.4±6.9) 年; 同时选择 24 名非苯接触工人作为对照组, 男 13 名, 女 11 名, 年龄 22~38 岁, 平均年龄 (28.4±5.3) 岁。所有调查者均排除泌尿、内分泌、代谢性等方面的疾病, 并在采样前禁食含防腐剂食品 1 d。

1.2 样品的采集和分析

1.2.1 空气样采集 工人上班后佩带个体采样器 (TMP1500 型), 100 ml/min 流速采样, 并记录在该浓度下工人接触时间, 计算时间加权平均浓度 (TWA)。

收稿日期: 2005-03-28; 修回日期: 2005-05-26

基金项目: 科技部《职业病防治技术标准研究》子课题 (2002BA906A63)

作者简介: 宋世震 (1964—), 男, 医学博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为分子毒理学。

1.2.2 尿样采集 用聚乙烯塑料瓶收集工人工作 8 h 后尿样、第二天班前尿 80~100 ml, 测相对密度, 弃去相对密度 <1.010 及 >1.030 的尿样, 每 100 ml 尿加 5~6 滴盐酸防腐, 4°C 保存。

1.2.3 样品分析 空气苯浓度采用 CS_2 解析气相色谱 (GC) 测定; 尿肌酐 (Cr) 浓度采用分光光度法测定 (WS/T97-1997); 尿中 t, t -MA 含量采用液-液萃取进样高效液相色谱 (HPLC) 测定, 并用肌酐校正法表示其浓度。

1.3 统计分析

所有数据经 Excel 2000 建立数据库, 用 SAS 软件 (8.1 版) 计算 ($\bar{x} \pm s$), 并作 t 检验和相关性分析。

2 结果

2.1 作用场所空气中苯浓度

作业场所空气中苯浓度 TWA 为 $0.3 \sim 146.1 \text{ mg/m}^3$ [$(42.1 \pm 34.1) \text{ mg/m}^3$], 明显高于对照组; 其中有 42 只样品超过我国车间空气卫生标准 (6 mg/m^3), 超标率达 75%。接触组时间加权平均浓度 (TWA) 平均为 42.1 mg/m^3 , 高于我国规定工作场所空气中 PC-TWA (6 mg/m^3) 7.0 倍。见表 1。

2.2 调查对象尿中 t, t -MA 浓度

56 名苯暴露工人尿中 t, t -MA 工作班末为 $(9.51 \pm 7.70) \text{ mg/gCr}$, 下一个工作班班前为 (5.42 ± 5.97)

表 3 接触组工人性别、苯接触水平与尿粘糠酸浓度比较 ($\bar{x} \pm s$)

	性 别		苯接触水平 (mg/m^3)		
	女性 ($n=26$)	男性 ($n=30$)	0~20 ($n=21, A$)	20~60 ($n=18, B$)	>60 ($n=17, C$)
班前	4.80 ± 5.19	6.00 ± 6.65	1.23 ± 1.17	4.85 ± 3.40	$11.21 \pm 7.02^*$
班后	$9.61 \pm 8.40^{\Delta}$	$9.42 \pm 7.14^{\Delta}$	$2.78 \pm 3.13^{\Delta}$	$10.03 \pm 4.59^{\Delta}$	$17.28 \pm 6.74^{\Delta*}$

与班前比较, $\Delta P < 0.01$; 与 A 比较, $P < 0.01$; 与 B 比较, $*P < 0.01$

2.4 作业场所苯浓度 TWA 与尿 t, t -MA 相关性

从表 3 可以看出作业场所苯浓度与接苯工人尿中 t, t -MA 浓度呈正相关。相关系数班末为 0.791, 班前 0.620, 根据回归方程, 推算与我国作业场所空气中苯 TWA 为 6 mg/m^3 时相对应的尿 t, t -MA 预测值, 工作班末尿 t, t -MA 估计值为 3.165 mg/gCr , 下一工作班前尿 t, t -MA 估计值为 1.572 mg/gCr , 详见表 4。

表 4 尿中 t, t -MA 浓度 (mg/gCr) 与作业场所苯 TWA (mg/m^3) 的关系

	t, t -MA 浓度	相关系数 (r)	斜率 (b)	截距 (a)	预测值 (mg/gCr)
班末	9.51 ± 7.70	0.791	0.177	2.103	3.165
下一班前	5.42 ± 5.97	0.620	0.108	0.924	1.572

mg/gCr ; 24 名非苯暴露工人的班末尿 t, t -MA 为 $(0.25 \pm 0.16) \text{ mg/gCr}$, 班前为 $(0.22 \pm 0.17) \text{ mg/gCr}$ 。苯暴露组与对照组、苯暴露组班前尿与班末尿 t, t -MA 含量差异均有显著性 ($P < 0.01$), 对照组班前、班末尿粘糠酸含量差异无显著性 ($t = 0.88, P = 0.386$)。见表 2。

表 1 两组车间空气中苯的浓度

组别	样品数	浓度范围 (mg/m^3)	超标率 (%)	TWA (mg/m^3)
暴露组	56	0.3~146.1	75	42.1 ± 34.1
对照组	24	0.0	0	

表 2 两组尿中反-反式粘糠酸的浓度比较 ($\bar{x} \pm s$) mg/gCr

组别	样本数	班前尿粘糠酸浓度	班后尿粘糠酸浓度
暴露组	56	$5.42 \pm 5.97^{\Delta}$	$9.51 \pm 7.70^{\Delta}$
对照组	24	0.22 ± 0.17	0.25 ± 0.16

与对照组比较, $\Delta P < 0.01$; 与班前比较, $P < 0.01$

2.3 暴露组工人性别、苯暴露水平与尿粘糠酸浓度关系

根据接触组接触苯水平的不同 ($0 \sim 20 \text{ mg/m}^3$, $20 \sim 60 \text{ mg/m}^3$, $>60 \text{ mg/m}^3$) 进行分组, 可以看出不论是班前还是班后, 其尿粘糠酸浓度都随着苯接触水平的升高而加大, 3 组间差异有非常显著性 ($P < 0.01$), 且呈剂量-反应关系; 但无性别差异, 班前 ($P = 0.21$), 班后 ($P = 0.39$)。见表 3。

3 讨论

苯主要以蒸气形式经呼吸道进入人体内, 液态苯也可经完整皮肤吸收但量甚微, 经消化道可完全吸收。经呼吸道吸入的苯约 45% 不经变化由肺呼出, 约 35% 在体内氧化为多元酚 (对苯二酚、邻苯二酚等), 在肝脏与葡萄糖醛酸、硫酸结合, 分别形成葡萄糖醛酸结合物和苯基磺酸经肾脏排出。约有 10% 的酚类快速氧化为顺、反粘糠酸, 最后氧化为二氧化碳排出体外。尚有 15%~20% 的苯在体内蓄积, 主要蓄积在骨髓、脑髓、脂肪组织和肝脏内^[2]。苯在肝脏经细胞色素氧化酶 2E1 介导, 形成苯环氧化物, 随之缓慢转化为苯酚, 并被进一步氧化为氢醌和邻苯二酚; 苯环氧化物通过微粒体开环反应, 可产生活性粘

糠酸。氢醌和邻苯二酚可在骨髓中蓄积, 再进一步氧化成醌、半醌或者形成微量开环产物—— t, t -MA^[3]。吸收到机体内的苯有2%~25%可转化为尿 t, t -MA, 其代谢转化速率与苯接触水平呈负相关^[4]。即在接触低浓度苯时, 更易形成 t, t -MA。Sanguinetti 研究数据提出在苯暴露级别为 ppb 时, 尿中 t, t -MA 不适合作苯接触的生物标志物^[5]。

关于尿中 t, t -MA 含量与空气中苯浓度的相关关系, 国内外均有报道, 大多认为只要严格控制采样时间和条件, 两者是具有良好的剂量-反应/效应关系的。如吴宜群等报道在接触空气苯的浓度在 16 mg/m³ 甚至以上时, 尿中 t, t -MA 浓度与苯 8 h 时间加权平均浓度之间存在着良好的线性关系, 即使在空气中苯的浓度低于 3.2 mg/m³ (1 ppm) 的情况下, 尿中 t, t -MA 浓度仍能与空气中苯的 6~7 h 的 TWA 浓度显著相关 ($P < 0.001$)^[6]。又如 Lee 等指出, 即使苯接触量 < 0.325 mg/m³, 接触者尿中 t, t -MA 浓度与空气中苯浓度间仍有良好的相关性 ($r > 0.8$), t, t -MA 可以作为接触低浓度苯时的生物监测指标^[7]。Panev 近年对空气中苯及其代谢物 t, t -MA 的相关性做了大量分析研究, 得出工作场所的苯浓度与班末尿中粘糠酸浓度有强相关性 ($r = 0.425$, $P = 0.01$) 的结论, 认定 t, t -MA 作为苯接触的生物标志物是可行的^[8]。

许多国家提出了适合本国苯接触限值下的尿 t, t -MA 生物接触限值, 如德国在研制苯的生物限值时, 考虑到苯的致癌性特征, 制定了苯的致癌物接触当量(EKA), 即按作业场所空气中苯的梯级浓度规定尿中 t, t -MA 不应超过的限值, 如接苯浓度为 2 mg/m³ 时尿 t, t -MA 为 1.6 mg/L, 接苯浓度为 3.3 mg/m³ 时尿 t, t -MA 为 2 mg/L, 接苯浓度为 6.5 mg/m³ 时尿 t, t -MA 为 3 mg/L, 最大值为接苯浓度为 19.5 mg/m³ 时尿 t, t -MA 不应超过 7 mg/L^[9]。法国苯的生物接触限值(IBE) 为 5 mg/L (5 ppm = 16 mg/m³), 芬兰(BAL) 40 μ mol/L $\approx$ 5.7 mg/L (5 ppm = 16 mg/m³), 巴西 1.6 mg/gCr (1 ppm = 3.2 mg/m³), 美国 ACGIH (BEI) 推荐的尿中 t, t -MA 为 0.5 mg/gCr (TLV-TWA: 0.5 ppm = 1.6 mg/m³)^[10]。本研究根据本次研究结果, 参考

国内外文献、数据和相关标准, 依据我国现行职业苯接触限值 TWA = 6 mg/m³, 同时短时间接触容许浓度在 10 mg/m³, 同时考虑人体在同一环境下吸入苯量和体内代谢转化的差异性, 建议我国职业接触苯作业班末尿中 t, t -MA 为 3.0 mg/gCr, 工作班前尿中 t, t -MA 为 1.50 mg/gCr。此建议值可作为职业接触苯的生物监测指标, 对大部分严格控制作业场所空气中苯浓度在国家标准范围内的企业或工作场所, 可以控制在其限值下。此建议值为推荐性参考值, 有待于今后实际工作中的进一步验证, 并积累更多的剂量-反应关系来补充和完善。

参考文献:

- [1] 李桂兰, 吴春玲, 尹松年. 接苯人群生物标志物研究进展 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1999, 17 (4): 246-248.
- [2] 许春向, 邹学贤. 现代卫生化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 833.
- [3] Melikian A, Connor R, Prahalad A, et al. Determination of urinary benzene metabolites S-phenylmercapturic acid and trans-trans-muconic acid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Carcinogenesis, 1999, 20 (4): 719-726.
- [4] Scherer G, Renner T, Meger M. Analysis and evaluation of trans-trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure [J]. Journal of Chromatogr Biomed Sci Appl, 1998, 717: 179-199.
- [5] Sanguinetti G, Accorsi A, Barbieri A, et al. Failure of urinary trans-trans-muconic acid as a biomarker for indoor environmental benzene exposure at ppb levels [J]. J Toxicol Environ Health A, 2001, 63 (8): 599-604.
- [6] 吴宜群, 唐瑾, 程玉琪, 等. 人尿中酚、粘糠酸、苯巯基尿酸的生物监测 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1997, 15 (3): 134-137.
- [7] 崔蓉. 苯的生物监测方法及进展 [J]. 国外医学卫生学分册, 1996, 23 (2): 139-141.
- [8] Panev T, Popov T, Chohadjieva D. Assessment of the correlation between exposure to benzene and urinary excretion of t, t -muconic acid in workers from a petrochemical plant [J]. Int Arch Occup Environ Health, 2002, 75: 97-100.
- [9] 杨磊, 张海谋, 林宇声. 德国工作场所化学物质卫生标准 [J]. 工业卫生与职业病, 1999, 25 (2): 120-123.
- [10] American Conference of Governmental Industrial Hygienists TLVs and BEIs Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices [Z]. Cincinnati, OH, 2004. 88.

保护劳动者健康是我们共同的责任。