

Detection and Analysis of PCDD/Fs in Human Fat

Juanjuan Liu Weihai Chen Yanhua Ding

Jiangsu Microspectrum Testing Technology Co., Ltd., Suzhou, Jiangsu, 215000, China

Abstract

PCDD/Fs, as a highly toxic environmental persistent organic pollutant, has attracted more and more attention. Because of its fat soluble characteristics, dioxins are easy to accumulate in human body after entering into human body, causing irreversible harm to human health. In this paper, the toxic equivalent mass concentration of dioxin in human fat was detected by high resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometer with isotope internal standard method. Through Soxhlet extraction, silica gel column and activated carbon column purification and computer analysis, the toxic equivalent mass concentration of dioxin in 5 human fat samples was detected between 2.00~10.0 pg TEQ/g.

Keywords

PCDD/Fs; isotope internal standard method; HRGC/HRMS; Soxhlet extraction; toxic equivalent mass concentration

人体脂肪中二噁英的检测分析

刘娟娟 陈卫海 丁燕华

江苏微谱检测技术有限公司, 中国·江苏·苏州 215000

摘要

二噁英(PCDD/Fs)作为剧毒的环境持久性有机污染物,越来越多的受到人们的关注。由于其脂溶性的特征,二噁英进入人体后容易在人体内富集累积,对人体健康造成不可逆的危害。论文采用同位素内标法,利用高分辨气相色谱/高分辨质谱仪检测人体脂肪中的二噁英的毒性当量质量浓度,通过索氏提取、硅胶柱和活性炭柱净化和上机分析等流程,检测出5个人体脂肪样本中二噁英的毒性当量质量浓度在2.00~10.1 pg TEQ/g之间。

关键词

PCDD/Fs; 同位素内标法; 高分辨气相色谱/高分辨质谱仪; 索氏提取; 毒性当量质量浓度

1 引言

二噁英是指具有相似结构和理化性质的多氯代平面芳烃类化合物,包括多氯代二苯并-对-二噁英(PCDD_s)和多氯代二苯并呋喃(PCDF_s),由一个或两个氧原子连接两个苯环形成,共有210种同系物。二噁英是人类在生产中无意识合成的,具有急性毒性的环境持久性有机污染物,化学性质稳定,不易挥发,极难溶于水,对酸碱稳定。自然界的微生物降解、水解和光解作用对二噁英的分子结构影响较小,难以自然降解,在自然沉积物中二噁英的半衰期估计大于100年^[1]。二噁英易溶于有机溶剂,具有亲脂性,因此,进入人体的二噁英可以富集在脂肪和肝脏内,很难被代谢和降解,不易排出体外,从而在人体内累积,进而对人体造成严重污染。二噁英可影响人体的免疫系统、生殖系统等,具有不可逆的“三致”毒性——致畸、致癌、致突变。

论文依据国家标准方法,以同位素稀释高分辨气相色谱/高分辨质谱法检测人体脂肪中二噁英的含量,并计算其毒性当量质量浓度。

2 材料和方法

2.1 标准品

¹³C标记的二噁英标准溶液EPA-1613CVS(U.S. EPA Method 1613 Calibration and Verification Solutions),提取内标EPA-1613LCS(U.S. EPA Method 1613 Labelled Compound Stock Solution),进样内标EPA-1613ISS(U.S. EPA Method 1613 Internal Standard Spiking Solution)。以上标准物质均购自加拿大Wellington Laboratories。

2.2 试剂与仪器

正己烷、二氯甲烷、甲苯(均为农残级,CINC),壬烷(99%, Alfa Aesar),硅胶(silica bulk, 60Å, 60-200um),活性炭

(Carbopack™ Adsorbent, 80–100 mesh, SUPELCO), 无水硫酸钠, 浓硫酸, 氢氧化钠。

高分辨气相色谱/高分辨质谱联用仪(美国 Thermo Fisher, DFS 高分辨扇形场磁质谱)、N-EVAP 型氮吹浓缩仪(美国 Organomation 公司)、旋转蒸发仪(东京理化 EYELA)、索氏提取装置。

2.3 样品介绍

5 份人体脂肪样品, 分别标记为样本 A、B、C、D、E。样本 A 为浅黄色膏状固体, 样本 BCDE 为红色膏状固体。均已冷冻保存于样品管内。

2.4 实验方法

2.4.1 样品提取

称取适量脂肪样品, 加无水硫酸钠研磨、干燥, 制成流动状的粉末, 置于索氏提取筒中, 添加提取内标 EPA-1613 LCS, 以正己烷和二氯甲烷的混合液(体积比 = 1: 1)为溶剂, 进行索氏提取, 提取 18 ~ 24h。

2.4.2 样品净化

(1) 酸性硅胶柱净化

在样品提取液中加入适量的酸性硅胶, 并不断摇晃, 然后静置, 直至上层提取液颜色澄清。用装有 无水硫酸钠 的玻璃柱进行过滤, 接收过滤液, 旋蒸浓缩至 1–2mL, 供下一步净化使用。

(2) 复合硅胶柱净化

取内径 15mm 的玻璃柱, 自下而上, 依次装填中性/碱性/中性/酸性/中性硅胶, 添加量为 1g/4g/1g/10g/2g, 最后上层装填 1 ~ 2cm 无水硫酸钠。轻敲玻璃柱, 使其填充均匀。使用 75mL 正己烷预淋洗复合硅胶柱, 待液面降至无水硫酸钠上层 2mm 处, 将过滤液转移至硅胶柱。用 100mL 正己烷洗脱硅胶柱, 并接收洗脱液, 旋蒸浓缩至 1–2mL, 供下一步净化使用。

(3) 活性炭柱净化

取内径 8mm 的玻璃柱, 自下而上依次装填 1.5g 活性炭、1 ~ 2cm 无水硫酸钠。依次使用 20mL 甲苯和 20mL 正己烷进行预淋洗。将洗脱液转移至活性炭柱, 依次使用 50mL 正己烷和 100mL 甲苯分别洗脱 DL-PCBs 和 PCDD/Fs 组分, 接收甲苯洗脱液, 旋蒸浓缩至 1–2mL, 供下一步使用。

2.4.3 样品浓缩

将活性炭柱的洗脱液转移至 K-D 浓缩管, 浓缩至近干,

用正己烷洗出, 转移至进样瓶, 氮吹至干, 加壬烷定容至 20μL, 添加 EPA-1613 ISS 进样内标, 上机分析。

2.5 样品分析

2.5.1 气相色谱条件

色谱柱 DB-5MS, 60m × 0.25mm × 0.25μm, 进样口温度 270℃, 不分流进样, 进样量 1μL, 传输线温度: 280℃, 升温程序: 初始温度 150℃, 保持 3min, 20℃/min 升温至 230℃, 保持 18min, 5℃/min 升温至 235℃, 保持 10min, 4℃/min 升温至 320℃, 保持 3min。

2.5.2 质谱分析条件

电离源为 EI 源, 离子源温度 270℃, SIM 选择离子检测法检测待测化合物的两个质量数 M 和 M+2 的色谱峰, 电子能量 35eV, 仪器调谐至分辨率满足 10000 以上。

3 结果与讨论

二噁英含量以毒性当量质量浓度^[2]表示, 即各二噁英类同类物质质量浓度折算为 2,3,7,8-TCDD 毒性的等价质量浓度, 为实测质量浓度与该异构体的毒性当量因子的乘积。论文选择的毒性当量因子为 WHO-2005-TEF^[3], 该数值由 2005 年世界卫生组织会议提出并于 2006 年发表在学术期刊上, 如表 1 所示。

表 1 二噁英毒性当量因子

名称		WHO-2005-TEF
PCDD	2378-TCDD	1
	12378-PeCDD	1
	123478-HxCDD	0.1
	123678-HxCDD	0.1
	123789-HxCDD	0.1
	1234678-HpCDD	0.01
	OCDD	0.0003
PCDF	2378-TCDF	0.1
	12378-PeCDF	0.03
	23478-PeCDF	0.3
	123478-HxCDF	0.1
	123678-HxCDF	0.1
	234678-HxCDF	0.1
	123789-HxCDF	0.1
	1234678-HpCDF	0.01
	1234789-HpCDF	0.01
	OCDF	0.0003

3.1 脂肪样本检测结果

脂肪样本 A、B、C、D、E 中 PCDD/F_s 的检测结果和分布如表 2 和图 1 所示, 毒性当量质量浓度在 2.00 ~ 10.1 pg TEQ/g 之间。其中 PCDD_s 的毒性当量质量浓度在 0.212~5.96 pg TEQ/g 之间, PCDF_s 的毒性当量质量浓度在 1.79~4.21pg TEQ/g 之间。

表 2 脂肪样本中的二噁英毒性当量质量浓度 (pg TEQ/g)

	样本 A	样本 B	样本 C	样本 D	样本 E
TCDD	0.81	0	0	1.04	0.411
P _c CDD	3.46	0.857	0	3.27	0.928
H _x CDD	1.42	0.293	0.159	1.40	0.217
H _p CDD	0.123	0.031	0.0448	0.17	0.0405
OCDD	0.0203	0.0188	0.00801	0.0822	0.0103
∑ PCDD	5.83	1.20	0.212	5.96	1.61
TCDF	0.0945	0.0128	0.0392	0.109	0.0643
P _c CDF	2.89	1.37	1.22	2.81	1.38
H _x CDF	1.19	0.652	0.515	1.18	0.554
H _p CDF	0.0286	0.0216	0.0160	0.0423	0.0157
OCDF	0.000339	0.000348	0.000420	0.000198	0.000303
∑ PCDF	4.21	2.05	1.79	4.14	2.02
∑(PCDD+PCDF)	10.0	3.25	2.00	10.1	3.63

3.2 样本 A 和样本 D 结论

样本 A 和样本 D 的 PCDD/F_s 的毒性当量质量浓度相近, 是 5 份样本中含量最高的, 分别为 10.0 pg TEQ/g 和 10.1 pg TEQ/g。PCDD_s 的毒性当量质量浓度分别为 5.83 和 5.96 pg TEQ/g, 占总量的 58.3% 和 59.0%, PCDF_s 的毒性当量质量浓度分别为 4.21 和 4.14 pg TEQ/g, 占总量的 42.1% 和 41.0%。PCDD_s 和 PCDF_s 的贡献量相近。

3.3 样本 E 的结论

样本 E 的 PCDD/F_s 的毒性当量质量浓度 3.63 pg TEQ/g, PCDD_s 和 PCDF_s 的毒性当量质量浓度分别为 1.61 和 2.02 pg TEQ/g, 占总量的 44.4% 和 55.6%, 贡献量相近。样本 B 的 PCDD/F_s 的毒性当量质量浓度 3.25 pg TEQ/g, PCDD_s 和 PCDF_s 的毒性当量质量浓度分别为 1.20 和 2.05 pg TEQ/g, 占总量的 36.9% 和 63.1%, PCDF_s 的贡献量是 PCDD_s 的两倍。

3.4 样本 C 的结论

样本 C 的 PCDD/F_s 的毒性当量质量浓度 2.00 pg TEQ/g, PCDD_s 和 PCDF_s 的毒性当量质量浓度分别为 0.212 和 1.79 pg TEQ/g, 占总量的 10.6% 和 89.5%, PCDF_s 的贡献量远大于 PCDD_s。

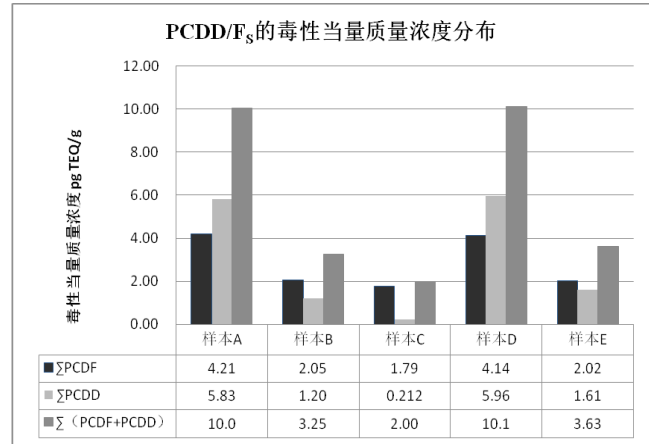


图 1 脂肪样本中的二噁英毒性当量质量浓度 (pg TEQ/g)

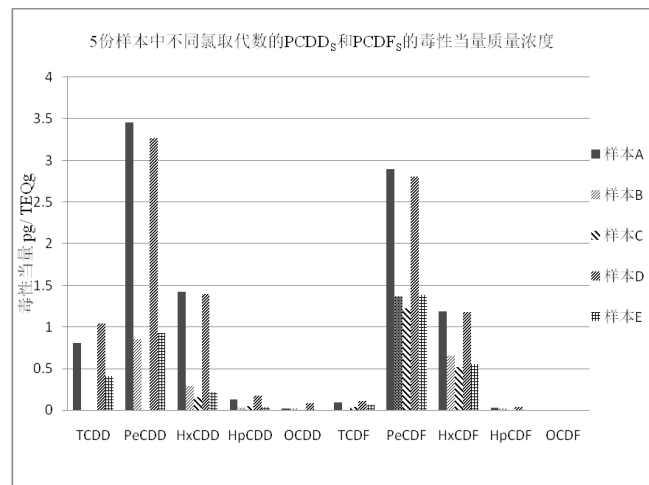


图 2 5 份样本中不同氯取代数的二噁英和呋喃的毒性当量质量浓度

3.5 5 份样本对比结论

由图 2 可知, PeCDF 和 HxCDF 在样本 A、B、C、D、E 中均有检出, 且毒性当量质量浓度偏大, PeCDD 的毒性当量质量浓度在样本 A、D 中含量最高, 样本 B、E 中也有检出, 但是在样本 C 中未检出。毒性最强的 2, 3, 7, 8-TCDD 在样本 A、D、E 中检出, 样本 B、C 中未检出。TCDF、HpCDD/F 和 OCDD/F 的毒性当量偏低。样本 A 和 D 的二噁英毒性当量质量浓度总量相近, 且单体的毒性当量分布也一致。

4 结语

论文通过高分辨气相色谱 / 高分辨质谱法检测人体脂肪中的二噁英, 其毒性当量质量浓度为 2.00 ~ 10.1 pg TEQ/g。张建清等^[4]曾检测人体胎盘组织中的 PCDD/F_s 毒性当量浓

度介于 3.3 ~ 38.19 pg TEQ/g 脂肪之间。毒性当量质量浓度高的样本中 PCDDs 的贡献量超过 PCDFs, 而毒性当量质量浓度较低的样本中 PCDFs 的贡献量大于 PCDDs。综合 5 份样本中不同氯取代数的 PCDD/Fs 的毒性当量质量浓度的分布可知, 低氯代 PCDD/Fs 贡献量较大, 其中 PeCDD/F 的毒性当量质量浓度占比最大, 其次是 HxCDD/F 和 TCDD, 而高氯代的 HpCDD/F 和 OCDD/F 含量较低。

由于条件所限, 论文仅对少量样本进行检测, 对人体脂肪中二噁英的毒性当量质量浓度有个初步的了解。由于二噁英是一种脂溶性物质, 极易在脂肪内累积富集, 世界卫生组织 (WHO) 最新规定的人日容许摄入量 TDI 值为 1~4pg/kg·d。

2006 年日本卫生部调查显示日本人均 PCDD/Fs 日摄入量为 1.06pg TEQ/kg^[5,6]。人类接触二噁英主要通过日常饮食, 95% 以上的二噁英摄入来自于人类所摄取的动物性脂肪^[7], 如肉类和牛奶、鱼、虾和贝类等。因此, 保护食品供应, 避免食品被二噁英污染尤为重要。同时, 调整日常的饮食结构, 减少肉类中的脂肪、食用低脂或去脂牛奶, 也可以降低对二噁英化合物的接触。

参考文献

- [1] B R Stanmore. The formation of dioxins in combustion systems. *Combustion and Flame*[J], 2004(136):398-427.
- [2] HJ 77.1-2008 水质 二噁英类的测定 同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨质谱法 [S].
- [3] GB 5009.205-2013 食品安全国家标准 食品中二噁英及其类似物毒性当量的测定 [S].
- [4] 张建清, 孙小康, 蒋友胜, 等. 人体胎盘组织二噁英和多溴联苯醚化合物负荷水平初步研究 [J], *中华预防医学杂志*, 2008(12):911-918.
- [5] Information brochure dioxins 2009-government of Japan[A/OL]. 2016-02-25.
- [6] 武亚凤, 陈建华, 张国宁, 等. 二噁英的污染现状及健康效应 [J]. *环境工程技术学报*, 2016(03):229-238.
- [7] Commission Regulation(EU). No. 199/2006 of 3 February 2006:amending regulation(EC) No.466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regard dioxins and dioxin-like PCBs [J].*Official Journal of the European Communities*,2006(132):34-38.