

二噁英、多氯联苯和氯丙醇的痕量与超痕量检测技术研究

吴永宁

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘要:为建立食品中二噁英、多氯联苯和氯丙醇的检测技术并达到国际水平,将稳定性同位素稀释质谱技术应用到中国食品安全和环境分析领域,针对不同目标化合物分别建立了高分辨质谱、四极杆低分辨质谱和离子阱串联质谱的标准化检测技术,特别是采用双同位素稀释同时测定4种氯丙醇的技术。通过对 EPA1613A/1668A、FDA 4084 和 EPS1/RM/31、AOAC 2000.01 等国际先进方法用食品(鱼、鱼油、鹿肉、奶粉和猪油)和环境样品(飞灰、土壤和底泥)开展对比筛选和一系列实验室间协同性验证,确立了二噁英和多氯联苯的稳定性同位素稀释质谱检测方法,建立了用双稳定性同位素进行酱油中单氯取代和双氯取代氯丙醇同时测定的方法,提出了符合国际规范的技术方案,作为国家标准方法待颁布。利用该检测技术在中国首次开展鱼贝类和土壤中污染的二噁英和多氯联苯同系物类型特征指纹库研究和酱油中氯丙醇的大规模调查,获得了中国人群膳食二噁英毒性当量和氯丙醇摄入状况的暴露数据,不仅证明所建立的方法实用、可行,也为我国履行承诺摸清了家底,提供了依据。

关键词:多氯联苯化合物;二噁英类;同位素稀释技术;高分辨质量

Capability building in China for ultra-trace analysis of dioxin, PCBs and chloropropanols

WU Yong-ning

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: The methods for the determination of dioxin (PCDD/Fs), polychlorinated biphenyls (PCBs, both indicator and coplanar) and chloropropanols in food with stable isotope dilution technique and gas chromatography-mass spectrometry were established based on the method EPA1613A and 1668A of US EPA, EPS1/RM/31 of Environment Canada and AOAC 2000.01 respectively. The international intercalibration collaborative study and Food Analysis Performance Accreditation System (FAPAS) were participated by China CDC, and get satisfactory result with z score. The method were used for determination of dioxin and PCBs in fish collected from different area of China and dioxin-like compounds in the samples of major animal origin food from Chinese total diet study in 2000, which indicate is wide application.

Key word: Polychlorinated Biphenyls;Dioxins;Isotopes Dilution Technique;
High Resolution Mass-Spectrometry

“二噁英、多氯联苯和氯丙醇的痕量与超痕量检测技术研究”课题是科技部国家“十五”攻关食品安全重大专项资助的项目,课题牵头单位为中国疾病预防控制中心(CDC)营养与食品安全所,中国科学院、北京大学、北京市CDC、江苏省CDC、深圳市CDC、福建省CDC、沈阳市CDC等单位共同参与完成。课题负责人吴永宁,执行时间2001年12月到2004年12月。

二噁英(PCDD/Fs)和多氯联苯(PCBs)为持久性有机污染物(POPs),是《斯德哥尔摩公约》中最重要的一类化合物。我国作为签约国,于2004年由全国人大批准履行《斯德哥尔摩公约》。而在履约能力中首先需要具备的超痕量检测能力即使在发达国家也只有少数实验室具备,这成为一个国家分析水平高低的标志。比利时的二噁英恶性污染事件(1999)使食品安全引起人们的高度重视,氯丙醇是继二噁英

基金项目:国家“十五”攻关食品安全重大专项课题(2001BA804A14、19、45)

作者简介:吴永宁 男 研究员 博士生导师

This work was supported by the National Major Project Funds with Thematic Priority of the Ministry of Science and Technology, China.

后又一食品安全的热点问题,由于我国当时没有能力准确检测,不仅使我国酱油的出口受阻,也极大地影响了我国的声誉。针对当今食品安全和环境科学领域关注的热点,建立食品中二噁英、多氯联苯和氯丙醇的检测技术并达到国际水平成为卫生部《食品安全行动计划》能力建设的考核指标。科技部在国家“十五”攻关重大项目中给予该工作重点支持,设立了“二噁英、多氯联苯和氯丙醇的痕量和超痕量检测技术研究”课题,其后该工作又上升为国家重大科技专项课题:“重要有机污染物的痕量和超痕量检测技术”。

本课题以稳定性同位素稀释质谱这一国际上最前沿分析技术开展攻关研究,筛选并建立适合我国的标准化检测技术;利用国际公认参考物质通过实验室间的方法验证和分析质量保证考核完成实验室间的协同性验证,提出了适合我国国情的技术方案,并形成一套标准化检测方法,报送国家管理部门审批公布,保证了我国履行 POPs 公约的能力。与此同时,二噁英超痕量分析技术通过 WHO 认可的国际比对与分析质量保证(AQA)考核,使我国提交的二噁英、多氯联苯和氯丙醇数据得到全球环境监测规划/食品部分(GEMS/Food)的承认,纳入制定国际标准用的监测数据库,并被 WHO/FAO 食品添加剂联合专家委员会(JECFA)和食品添加剂与污染物法典委员会(CCFAC)采用(参与国际标准制定),既保障了我国的食品安全和人体健康,又维护了我国利益。

1 主要研究内容和目标

1.1 二噁英毒性当量超痕量检测技术的筛选、验证与国际分析质量保证考核 利用国际公认标准参考物(奶粉与鱼样等食品样品和底泥与飞灰等环境样品)对现有检测技术(特别是在 PCDD/Fs 中美国 EPA1613 的高分辨质谱方法和 FDA 建立的 LIB4084 串联质谱技术,共平面 PCBs 的 EPA1668 的高分辨质

谱方法)进行实验室间验证与比对,提出适合我国国情的技术方案(标准化方法和标准操作程序),先后 7 次由中国疾病预防控制中心(CDC)营养与食品安全所牵头,组织中科院生态环境研究中心、北京大学、深圳市 CDC、浙江省 CDC、中科院大连化学物理研究所等参加了国际权威机构组织的二噁英国际 AQA 盲样考核(分别是挪威公共卫生研究所、瑞典 Omea 大学/Örebro 大学二噁英国际比对组织(Dioxin Intercal)、英国中央科学实验室(Central Science Laboratory, CSL)、美国剑桥同位素实验室(Cambridge Isotope Laboratories Inc., CIL)和意大利化学会环境化学与质谱学会(la Chimica per l'Ambiente, Consorzio Interuniversitario Nazionale 和 Divisione di Spettrometria di Massa, Societ à Chimica Italiana)组织的国际比对)。所涉及的样品基质包括鱼肉(图 1)、鹿肉(图 2)、鱼油(图 3)、土壤和底泥、飞灰、未知溶液等样品。参加了世界卫生组织(WHO)认可的国际比对(包括未知溶液、鱼样和鱼油、飞灰和底泥与土壤样品)和定值研究以获得国际认可。

1.2 指示性多氯联苯的稳定性同位素稀释质谱检测技术的建立、验证与国际分析质量保证考核 以加拿大环境保护局 EPS 1/RM/31 方法为基础利用稳定性同位素稀释技术建立环境样品和动物性食品中多氯联苯(PCBs)的痕量分析方法,研究重点是用以持久性指标为主的 20 种同系物异构体(包括 GEMS/Food 规定的 PCB28、52、101、138、153、180 和 209)作为 POPs 的指示性替代,进行实验室间协同性验证研究,并参加挪威公共卫生研究所、瑞典二噁英国际比对组织、美国 CIL 和意大利化学会环境化学与质谱学会组织的国际比对,所涉及的样品基质包括鹿肉(图 2)、鱼肉(图 1)、鱼油(图 3)、土壤和底泥、飞灰、未知溶液等样品。通过国际比对和定值研究以获得国际认可。

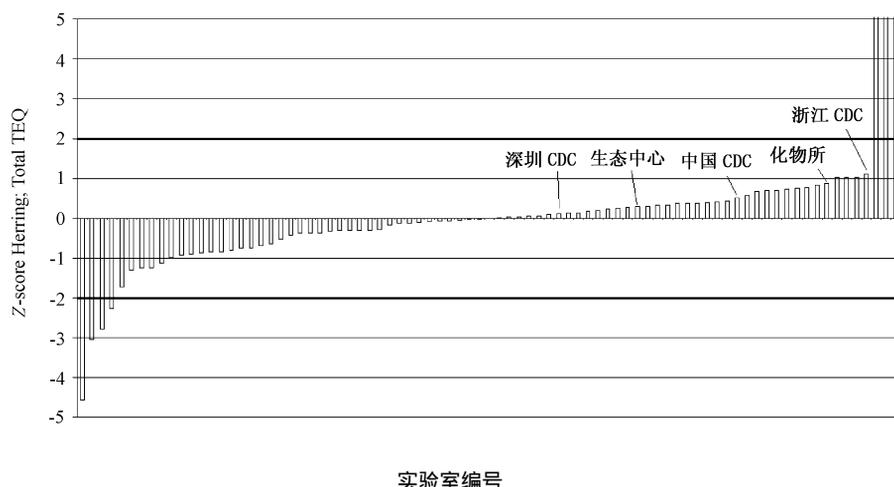
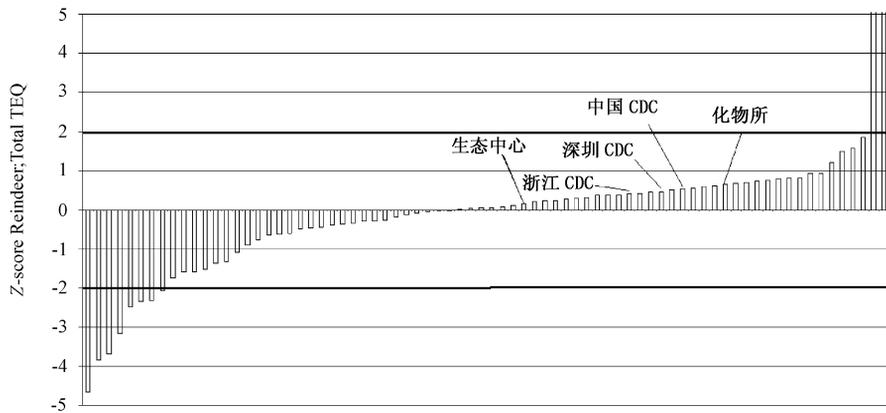
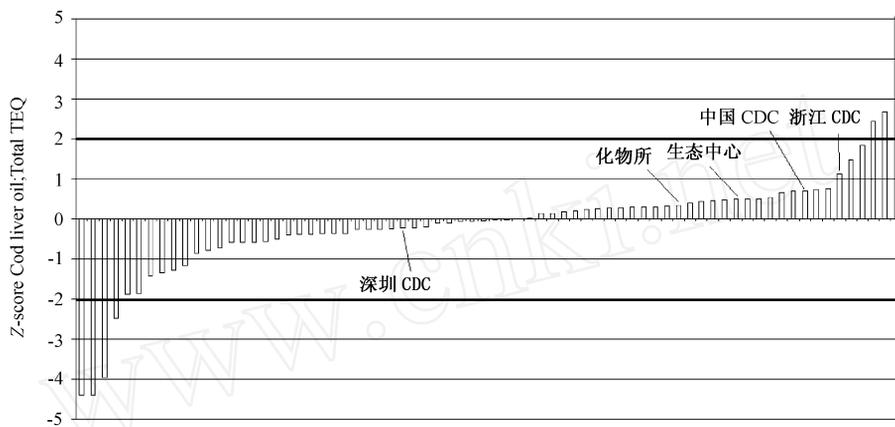


图 1 国际比对实验结果 - 鱼肉



实验室编号
图 2 国际比对实验结果 - 鹿肉



实验室编号
图 3 国际比对实验结果 - 鱼油

1.3 食品中氯丙醇的稳定性同位素稀释质谱检测技术的建立 以 AOAC 2000.01 方法为基础,采用稳定性同位素稀释技术建立食品中 3-氯-1,2-丙二醇(3-MCDP)、1,3-二氯-2-丙醇(1,3-DCP)和 2,3-二氯-1-丙醇(2,3-DCP)的测定方法,食品种类包括酱油、植物水解蛋白质、淀粉类食品和肉制品等,其中 3-MCDP 的检测以 3-MCDP-d5 为内标;1,3-DCP 和 2,3-DCP 检测以 2,3-DCP-d5 为内标。由中国 CDC 营养与食品安全所牵头中科院生态环境研究中心、北京市 CDC、福建省 CDC、江苏省 CDC、沈阳市 CDC、广东省 CDC 的实验室参加英国中央科学实验室组织的食品实验室分析水平国际测试(FAPAS)。

2 重要结果

2.1 二噁英毒性当量超痕量技术 课题组成功建立了以 17 个 PCDD/Fs 和 12 个共平面 PCBs 为目标的标准化的检验方法,7 次以优异成绩通过国际比对,获得二噁英毒性当量标准参考物的定值证书,使我国的超痕量检测技术获得国际认可。参考美国

EPA1613A 和 EPA1668A 方法在我国实验室建立了高分辨质谱方法,不仅建立了手工装柱的净化体系,还建立了自动液体管理系统(FMS)同时净化 PCDD/Fs 和共平面 PCBs 的体系,提出了适合我国国情的技术方案(标准化方法和标准操作程序)。特别是在协同性验证中,所检测的国际公认标准参考物如奶粉 CRM532(欧盟)、鱼样(加拿大国家研究委员会 CARP 和美国剑桥同位素实验室 CIL 的 EDF)和荷兰的猪油试样(食品安全所作为内控样品)的 17 个 PCDD/Fs 的测定值均在所提供的标准参考值范围内,相对标准偏差(RSD)小于 30%;鱼样标准参考物(加拿大国家研究委员会 CARP)中 12 个共平面 PCBs 同系物测试的测定值均在所提供的标准参考值范围内,相对标准偏差(RSD)小于 15%。对 70 个不同基质的样品(奶粉、鱼肉、鱼油、猪肉、鹿肉、植物油、动物油、鸡蛋)的二噁英进行超痕量分析检测,样品同位素内标回收率范围均在 40%~130%之间。由中科院环境生态研究中心、北京大学、深圳市 CDC、浙江省 CDC 和中科院水生所完成的鲤鱼标准

参考物(CARP)验证,二噁英毒性当量(TEQ)的重现性(RSD_r)为1.64%、再现性(RSD_R)为16.4%;高污染鱼样(EDF2537)由中科院环境生态研究中心、深圳市CDC、浙江省CDC完成,TEQ的重现性(RSD_r)和再现性(RSD_R)分别为2.04%和3.07%,各同系物也均在11%以下。7次国际比对试验Z评分大多在1以内,少数在2以内;3次土壤和飞灰比对的成績为在136个参加实验室中处于前45名。中国CDC营养与食品安全所、中国科学院、深圳CDC的测定结果以优异成绩通过(Z评分大多在1以内);参加美国CIL组织的土壤(2份)和鱼样(3份)的比对试验不仅结果优秀,而且还作为定值单位获得CIL证书。

2.2 指示性PCBs的痕量检测技术 在四极杆和串联质谱两种仪器上建立了环境和食品中多氯联苯的稳定性同位素稀释质谱检测技术的标准化方法,该方法以优异成绩通过国际比对,获得有证标准参考物定值证书。以加拿大环境保护局ESP 1/RM/31方法为基础,利用稳定性同位素稀释技术建立了鱼样中PCBs痕量分析方法,研究重点是以持久性指标为主的20种同系物异构体(包括GEMS/Food规定的PCB28、52、101、138、153、180和209)。不仅利用原环境方法建立了食品测定的四极杆质谱方法,而且重点发展了串联质谱方法,使检测灵敏度符合食品检验的要求。实验室间协同性验证表明,各单体的加标回收率在72.4%~107.7%之间, RSD_r 在7.1%以下、 RSD_R 在23.7%以下。中国CDC营养与食品安全所、中国科学院、深圳市CDC参加美国CIL组织的土壤(2份)和鱼样(3份)的比对试验,不仅结果优秀(Z评分大多在1以内),而且还作为定值单位获得CIL证书。

2.3 多组分氯丙醇的痕量检测技术 以双同位素稀释技术(原创性工作)建立了食品中多组分氯丙醇的稳定性同位素稀释质谱检测技术,在协同性验证的基础上建立标准化方法,以优异成绩通过FAPAS考核。在AOAC 2000.01方法的基础上建立了国家食品卫生标准GB/T 5009.191—2003《食品中3-氯-1,2-丙二醇(3-MCPD)的测定》。加入双同位素内标d5-1,3-DCP、d5-3-MCPD原创性地建立了稳定性同位素稀释技术结合GC-MS检测食品中多组分氯丙醇的方法。该方法可同时分析食品中4种氯丙醇,达到国际领先水平。氯丙醇的检出限、定量限均低于5.0 μg/kg,相关系数大于0.99,线性范围在20~500 ng/ml之间。分别在酱油、鸡精、蚝油、火腿中进行了氯丙醇加标回收试验,各协同性试验参加单位对1,3-DCP、2,3-DCP、3-MCPD的平均回收率分别在

75%~119%、80.5%~132%、86.3%~115%之间, RSD 分别在2.9%~9.8%、4.14%~14.8%、4.7%~12.5%之间; RSD_r 分别为4.70%、11.5%、4.29%和8.04%, RSD_R 分别为10.2%、14.1%、6.20%和11.8%。参加FAPAS考核的6个中国实验室3-MCPD含量Z评分在2.0以内;1,3-DCP的Z评分在1.0以内,处在理想水平,全球25个实验室仅10个达到该水平(表1)。协同性验证结果显示本研究建立的方法的1,3-DCP和3-MCPD的 RSD_r 分别为8.93%和3.96%, RSD_R 分别为8.94%和4.75%。

2.4 监测应用与验证 利用建立的方法开展了一系列的监测工作,均取得了较好的结果,测定结果准确,色谱、质谱系统均保持了较好的性能,验证了本方法的广泛适用性。在此基础上完成了中国总膳食研究中4类样品的测定,表明我国居民二噁英摄入量已经与发达国家相当。从我国膳食中二噁英摄入量的来源构成看,肉占34.82%、奶占15.83%、鱼占28.64%、蛋占20.71%。与发达国家的污染源构成相比,我国鱼类水产品的污染所占比重较大。深圳市CDC完成31个鱼样的PCDD/Fs测定,浓度分布在0.21~9.57 pg/g之间,以WHO-TEQ计算所得的平均浓度是0.35 pg/g,范围分布在0.03~1.29 pg/g之间。中国科学院生态环境研究中心还完成了土壤和水产品的PCDD/Fs、共平面PCBs以及指示性PCBs污染状况的初步调查。先后用于全国食品污染物监测网(2003年11省、市和2004年8省、市)及卫生部2004年健康相关产品抽检计划(9个省、市)。向CCFAC提交了近1000份3-MCPD的监测数据,说明纯发酵酱油中不存在氯丙醇的污染(低于20 g/kg)。中国CDC营养与食品安全所完成了近600份市售酱油样品、30余份总膳食样品、20余份氨基酸类保健食品和方便面调料、20份酸水解植物蛋白液和生物材料(人体尿液)4种氯丙醇的检测,检测结果说明我国以酸水解植物蛋白液为基质的食品仍然存在着氯丙醇污染的问题。

3 实施效果

国家对反映国家分析水平的二噁英、多氯联苯和氯丙醇痕量和超痕量检测技术的研究极为重视,科技部从2000年~2003年先后通过“九五攻关”《食品安全关键技术》、“十五攻关”《二噁英、多氯联苯和氯丙醇痕量和超痕量检测技术》(2001BA804A13)、“重大专项《重要有机污染物痕量和超痕量检测技术》(2001BA804A19、2001BA804A45)等项目对其予以高强度资助;卫生部将其列入国家《食品安全行动计划》,并将二噁英、多氯联苯和氯丙醇实验室能力建设作为卫生部的考核指标。

表1 2005年FAPAS酱油(2616)全球实验室1,3-DCP、3-MCPD的测定结果

中国参加单位	实验室编号	1,3-DCP 指定值 26.8 µg/kg		3-MCPD 指定值 44.0 µg/kg	
		结果	z-评分	结果	z-评分
	001	21.1	-0.8	45.0	0.1
	002		36.0	-0.8	
	003	27.4	0.3	62.3	1.9
	004	30.2	0.8	40.7	-0.3
	005			44	0.0
	006			46	0.2
	007			46	0.2
	008	49.78	4.2	137.39	9.6
	009			38.02	-0.6
	010	29	0.6	41	-0.3
	011	23	-0.5	43	-0.1
	012	29.7	0.7	42.4	-0.2
	013			44	0.0
	014			40	-0.4
	015			32	-1.2
	016			39	-0.5
	017			36.0	-0.8
	018	23	-0.5	45	0.1
	019			14.13	-3.1
	020	27	0.2	47	0.3
广东疾病预防控制中心	021	26.58	0.0	50.46	0.7
	022	26.40	0.1	52.50	0.8
江苏疾病预防控制中心	023	26.40	0.1	52.50	0.9
沈阳疾病预防控制中心	024	29.68	0.7	46.67	0.3
浙江疾病预防控制中心	025	26	0.0	52	0.8
北京疾病预防控制中心	026	23.83	-0.4	50.76	0.7
	027	22.46	-0.6	46.63	0.3
福建疾病预防控制中心	028	25.6	0.0	48.3	0.4
中国疾病预防控制中心	029	25.60	0.0	47.80	0.4
	030	16	-1.7	47	0.3
	031			44	0.0
	032	25.6	0.0	22.8	-2.2

课题实施4年来,建立了一套有关食品和环境
的标准化检验方法与控制标准,分别由卫生部和国家
环境保护总局作为国家标准或行业标准发布:
GB/T 5009.190—2003《海产品中多氯联苯的测定》;
GB/T 5009.192—2003《食品中3-氯-1,2-丙二醇(3-
MCPD)测定方法》;GB 18485—2001《生活垃圾焚烧
污染控制标准》;HJ/T 77—2001《稳定性同位素稀释
高分辨质谱检测多氯代二苯并二噁英和多氯代二苯
并呋喃》。起草并被卫生部批准待颁布的标准
(2005)1项:GB 2762—2005《食品中污染物限量》中
“4.11 海产品中多氯联苯的限量”(代替GB 9674—
1988)。起草标准建议稿4项,已经被卫生部推荐到
2003年~2005年国家项目计划中:GB/T
5009.190—200X《海产品中指示性多氯联苯的测定
—稳定性同位素稀释质谱方法》,《动物性食品中二
噁英毒性质量的测定—稳定性同位素稀释高分辨质

谱方法》,包括1)多氯代二苯并二噁英和多氯代二
苯并呋喃测定,2)共平面多氯联苯测定,3)多氯代二
噁英、多氯代二苯并呋喃和共平面多氯联苯同时测
定(自动液体管理系统应用)。

先后7次参加有关PCDD/Fs、共平面和指示性
PCBs的国际比对以及氯丙醇的分析水平测试,均以
优秀成绩通过,使我国超痕量实验室水平获得国际
承认,并作为国际有证标准参考物的定值单位。课
题参加单位在完成课题后,参加有关PCDD/Fs、共平
面和指示性PCBs以及氯丙醇的协同性验证的实验
室均通过国家计量认证和/或国家实验室项目认可。
其中,中国CDC营养与食品安全所、深圳市CDC和
中国科学院武汉水生生物研究所还被卫生部认定为
卫生部二噁英实验室。本课题已经全面实现国家
《食品安全行动计划》中对卫生部二噁英、多氯联苯
和氯丙醇实验室能力建设的考核指标。

有关研究结果的论文连续3年被二噁英与其它持久性有机污染物年会接受(2002年巴塞罗那、2003年波斯顿和2004年柏林),并在2002年巴塞罗那做大会报告。

先后发表著作2部,论文30余篇,代表性论著:

- 1) 吴永宁,主编. 现代食品安全科学[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- 2) 王绪卿,吴永宁,编著. 色谱在食品安全中的应用(色谱技术系列丛书)[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- 3) Wu W, Schramm K W, Xu Y, et al. Mobility and profiles of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in sediment of Ya-er lake China[J]. Water Research, 2001, 35(12):3025-3033.
- 4) Wu W, Chen J, Rehmann K, et al. Estrogenic effects from household stoves[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2002, 53:65-69.
- 5) Wu Y, Li J, Zhao Y, et al. Dietary intake of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in populations from China [J]. Organohalogen Compounds, 2002, 57:221-223.
- 6) Wu Y, Li J, Validation of a GC-MS method for indicator PCBs in marine fish and its application on survey in Beijing [J]. Organohalogen Compounds, 2004, 66:2154-2158.
- 7) Zhang J, Zhuang Z, Jiang Y, et al. Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in the common fishes in Zhujiang area by isotope dilution HRGC/HRMS [J]. Organohalogen Compounds, 2004, 66:1725-1732.
- 8) Zhao X, Zheng M, Liang L, et al. Assessment of PCBs and PCDD/Fs along the Chinese Bohai sea coastine by using molluski bioindicator[Z]. Archive of Environmental Contamination and Toxicology (2005, accepted)
- 9) 赵兴茹,张兵,张庆华,等. 高分辨气相色谱高分辨质谱技术测定海产食品中多氯联苯[J]. 分析测试学报, 2003, 22(增刊):285-287.
- 10) 姜杰,张建清,周健,等. 高分辨气相色谱高分

辨质谱测定鱼体中的类二噁英样多氯联苯[J]. 中国卫生检验杂志,2004, 14(2):155-156.

- 11) 李敬光,吴永宁. 食品中多氯联苯分析前处理技术进展[J]. 中国食品卫生杂志,2004, 16(6):540-545.
- 12) 李敬光,吴永宁. 同位素稀释 GC-LRMS 法测定鱼肉中指示性 PCB [J]. 卫生研究,2005, 34:322-325.
- 13) 李敬光,赵云峰,吴永宁. GC-IT-MS/MS 法测定鱼肉中指示性多氯联苯[J]. 分析化学,2005, 33(付印中).
- 14) 李敬光,吴永宁,张建清,等. 自动样品净化系统分析鱼样中二噁英和共平面多氯联苯[J]. 中国食品卫生杂志,2005,17(3):212-216.
- 15) 张建清,李敬光,吴永宁,等. 同位素稀释的 GC/HRMS 同时定量分析食品中二噁英和共平面多氯联苯[J]. 分析化学,2005, 33:296-299.
- 16) 张建清,钟伟祥,单慧娟,等. 气相色谱/高分辨双聚焦磁式质谱联用仪(HRGC/HRMS)定量检测市售猪肉中二噁英[J]. 分析化学,2002, 30(12):1481-1485.
- 17) 张建清,姜杰,周健. 六种市售奶粉氯化二噁英和氯化二苯并呋喃的定量检测分析[J]. 中华预防医学杂志,2003, 37(3):189-192.
- 18) 张建清,姜杰,周健. 鱼体中氯化二噁英和氯化二苯并呋喃的定量检测分析[J]. 分析测试学报,2003, 22(5):173-176.
- 19) 赵云峰,赵京铃,吴永宁,等. 稳定性同位素稀释 GC-MS 方法测定食品中3-氯-1,2-丙二醇的验证研究[J]. 卫生研究,2004, 33:629-602.
- 20) 付武胜,吴永宁,赵云峰,等. 稳定性同位素稀释技术结合 GC-MS 方法测定酱油中多组分氯丙醇的研究[J]. 中国食品卫生杂志,2004,16(4):289-294.
- 21) 付武胜,吴永宁,赵云峰,等. 稳定性同位素稀释技术结合 GC-MS 检测食品中多组分氯丙醇方法的协同性验证[C],第三届全国分析毒理学学术研讨会,南京,2004,14-15

[收稿日期:2005-08-02]

中图分类号:R15;O657.63 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2005)06-0481-06