

吴永宁 赵云峰 中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所(100050)

食品中 PCDD/Fs 分析属超痕量(pg-fg)、多组分(同系物、异构体的分离)和复杂前处理技术,对特异性、选择性和灵敏度的要求极高,成为当今食品和环境分析领域的难点。目前仅在发达国家的少数实验室能够开展。WHO 指出仅有约 100 个实验室具备检测能力。^[1]超痕量分析是因二恶英在环境样品中水平极低,WHO 规定的 TDI 为 1~4 pg/kg BW;^[2]相应要求食品中 PCDD/Fs 测定方法的检测限以脂肪计低于 1 pg/g(甚至为 fg/g 水平的测定),不到其它污染物含量的 1/1 000。所谓多组分是指 PCDD/Fs 中各同系物、异构体的毒性相差很大,具毒性的 17 种 2,3,7,8-取代 PCDD/Fs 具有毒性,进行危险性评价时需选择性测定。而 PCDD/Fs 共有 210 个同系物、异构体,加上 209 个 PCBs,共有 419 个二恶英及其类似物。另外,试样在进行仪器分析前要浓缩至 1/1 000、1/10 000,提取液中的 PCDD/Fs 比其共提取物和基质中同系物及其它氯化化合物等干扰组分低得多,使得这一超痕量分析极为困难。只有良好的净化技术及特异性的分离手段才能满足要求。^[3~5]为保证分析质量,国际组织及有关国家建立了官方分析方法与指南,如国际癌症研究中心(IARC)^[4]、欧盟的公共标准局^[6]、美国环境保护局(EPA)^[7,8]和美国食品药品监督管理局(FDA)^[9]。

FAO/WHO 食品法典委员会正在着手建立食品二恶英限量标准和相应检验方法,起草人认为高分辨气相色谱与高分辨质谱联用技术(HRGC-HRMS)是目前唯一适用的化学方法。而用 DNA 重组技术建立的生物学方法在二恶英总 TEQ 水平测定可达到特异性、选择性和灵敏度的要求,且所测结果与 HRGC-HRMS 方法相当,可作为大量样品筛选手段。^[10]

1 气相色谱与质谱联用的化学分析方法 PCDD/Fs 的化学分析有两种不同的方案,一为分析所有 PCDD/Fs,目的在于了解各化合物的分布形式,鉴定其可能的来源;另一为仅测定 2,3,7,8-取代的 17 种 PCDD/Fs。后一方法较完善,以美国 EPA1613 方法为代表的 HRGC-HRMS 方法已成为各国公认的仲裁方法。本文主要以此为基础对这一领域的进展作简要综述。

环境及生物材料中 PCDD/Fs 的分析主要包括 5 个方面,即:样品采集、提取、净化、分离及定量测定。^[4,6]

1.1 样品采集^[4,6] 与有机氯农药残留检测方法相似,但 PCDD/Fs 应更注意安全操作和避免试验过程中的污染。PCDD/Fs 具有光解作用,尤其在溶液中低氯代化合物光解作用更为迅速。故样品应避光、低温保存。

样品的取样量依样品类型、污染水平、潜在干扰物质与方法的检测限而定。一般样品为 1~50 g,对于含脂低、污染轻的样品必要时可增加到 100~1 000 g。

1.2 提取^[4~10] 提取前,加入 ¹³C 或 ³⁷Cl 标记的内标,用以测定提取净化效率与校正分析丢失。PCDD/Fs 的提取方法与有机氯农药残留检测方法相似,包括溶解、振摇、混匀、超声或索氏提取。提取步骤和溶剂选择取决于样品类型和净化方法。如脂肪和油可采用二氯甲烷+己烷(1+1)直接提取;其它食品可使用不同比例的提取溶剂,采用包括索氏提取在内的各种提取方法。

许多实验室对比试验已经表明鱼、猪脂肪、牛奶、母乳、人血和脂肪组织所用各种提取方法回收率的可接受性。^[11~15]作为新技术使用 CO₂ 为流体的超临界流体提取方法,也用于生物样品中 PCDD/Fs 的提取。^[16]

1.3 净化 净化目的是除去共提取物中的干扰组分,净化程度取决于被测组分的数目、基质干扰及 GC-MS 状态。目前大多采用色谱法进行净化,包括吸附、分配与排阻色谱。一系列色谱柱,如硅胶加化学改性吸附剂(用硫酸、KOH、CsOH 处理的硅藻土及硅胶)、Florisor、氧化铝、活性炭等,常被串联使用,多层色谱联用柱也日益普及。^[17]

根据样品类型选择适当的净化方法,存在大量共提取物时需要进行预处理。包括酸或碱洗,如用硫酸处理消除油脂等干扰组分;硅胶柱可吸附脂质及油脂成分,用硫酸、氢氧化钠和硝酸银浸泡处理的多层硅胶柱进

* 国家自然科学基金资助课题

行洗脱;凝胶渗透色谱也被用来去除脂肪和其它分子量相对较高的化合物。^[4,5]

微型氧化铝柱(用一次性玻璃滴管装柱)可除去提取液中弱极性的氯代苯、多氯联苯与联三苯和多氯代二苯醚,这些物质被二氯甲烷+正己烷(1+50)首先洗脱出来,留置柱上的PCDD/Fs再用二氯甲烷+正己烷(1+1)洗脱。这种处理还可除去多氯代-2-苯氧基酚(二恶英的一种前体),以避免其在GC柱上因加热闭环形成PCDDs的干扰。^[4]

80年代中期以来广泛使用双柱法,提取液首先经活性炭吸附,用二氯甲烷洗脱,将平面化合物(包括PCDD/Fs)与非平面化合物分离。^[17]用甲苯对活性炭柱反相洗脱平面化合物,再用氧化铝柱将PCDD/Fs与其它平面化合物分离(如:非邻位取代的PCBs、多氯代萘)。此法对复杂生物样品的分析十分适用,已有自动化仪器商业供应^[4,18]。近年来也有采用HPLC分离PCDD/Fs的报道,主要用于2,3,7,8-TCDD的定量分析,也用于处理难以净化样品分析其它PCDD/Fs。^[13]

提取、净化方法的优劣,应以验证其有效性来确定。通过测定加标样品及基质空白,可获得检测浓度下的回收率。PCDD/Fs分析时至少需要三套标准:一套为17种¹²C-PCDD/Fs;一套为15种¹³C-PCDD/Fs的定量内标和2个¹³C标记的用于确定色谱保留时间的内标;另一套为考察净化效率的³⁷Cl-2,3,7,8-TCDD标准。

1.4 分离 净化手段尽管复杂,最终的提取液仍存在氯代化合物的干扰。这就需要良好分离技术。化学键合固定相的HRGC是有效分离PCDD/Fs的唯一选择。^[13,19]常用WCOT毛细管柱,长度为15~60 m,内径0.22~0.35 mm,内膜厚度为0.15~0.25 μm 。非极性或弱极性固定相(烷基/芳基硅烷,如OV1 SE30 SE52、SE54 PS255 DB-1 DB-5 OV17-01等)可有效地将PCDD/Fs分离为氯原子取代数相同的化合物的组(如:所有TCDDs和TCDFs及所有PeCDDs和PeCDFs等分离),而极性固定相(氰基硅烷,如silar 10c SP2330 SP2340 CP SIL88等)可将一组中的异构体进行分离。迄今为止,尚未见仅用一根色谱柱即可分离所有同系物异构体的报道。使用欧共体规定使用的非极性色谱柱(如DB-5)分析仅有2,3,7,8-取代的PCDD/Fs,同时使用非极性色谱柱和极性色谱柱(如SP2331和CPSIL88)可分离其它位置上氯取代的PCDD/Fs。^[6]食品中所要测定的是17种2,3,7,8取代的PCDD/Fs,仅采用非极性的色谱柱基本可以满足要求。^[5]

色谱柱的柱长、内径及涂膜厚度决定了操作条件(温度和载气流速)及被分析物的保留时间。通过对要定量的17种2,3,7,8取代的PCDD/Fs同系物异构体(¹³C标记与未标记)标准品比较获得保留时间。为能准确鉴定被分析组分,校准标准的使用极为必要。应单独测试每个HRGC系统中同系物异构体的色谱出峰次序(文献仅作为参考),因此在仪器分析前需要测试柱效的PCDD/Fs标准进行证实,也可使用含已知同系物异构体成分的样品提取液(如飞灰)。

1.5 定量 要尽量减少化学噪声和改善检出限,以保证PCDD/Fs这一类复杂化合物的痕量分析。采用选择离子监测(SIM)的质谱法,以¹³C稳定同位素为内标,校正标准测定各个同系物异构体的响应因子和线性范围。^[5~13]定量检测主要采用SIM技术监测氯同位素2个分子离子(M^+ , $M^+ + 2$)或其它丰度较高离子,同时监测相应的¹³C稳定性同位素内标氯同位素的两个分子离子,通过不同窗口对氯不同取代程度的异构体分别定量。这可减少共提取物和其它污染物的干扰,提高检测选择性和灵敏度。所使用仪器包括四极杆低分辨质谱仪(LRMS)、双聚焦磁式扇形高分辨质谱仪(HRMS)和质谱-质谱串联(MS-MS)。HRMS通过监测精确质量提供了最高的选择性,因此HRMS是PCDD/Fs测定的首选仪器。电子轰击源为PCDD/Fs分析的常用电离方式(EI)。阴离子化学电离(NCI)对高氯取代化合物有更高的灵敏度,但不适合低氯取代的化合物,如2,3,7,8-TCDD的分析。^[5,6]

MS方法的灵敏度不是由标准溶液的信噪比提供,而是由样品基质条件下的信噪比决定。LRMS在理论上可以达到检测要求的灵敏度,但由于复杂基质和共存的PCBs及其它氯代化合物的干扰,食品中PCDD/Fs低于pg/g水平的分析的灵敏度和其它技术指标都难以达到分析要求。^[4,6,19,20]为了得到分析食物中TCDDs的准确结果,分辨率在10000以上的HRMS成为唯一选择。因为TCDD的 M^+ 离子m/z为319.8963,而干扰物二氯二苯基二氯乙烯的 $M^+ + 4$ 离子为319.9321,需要分辨率为9,000的HRMS。双聚焦磁式扇形HRMS不仅提高了仪器的分辨率,而且提高了信噪比,这意味着化学噪音的降低、灵敏度的提高,^[4]同时检测多个离

子质量的能力较强,进行 SIM 时 m/z 值可长时间不发生漂移,进一步改进信噪比,提供极高的灵敏度,最小检出限可达 10fg,更适合于 PCDD/Fs 分析要求,为多数二恶英分析实验室采用。基于 HRMS 的技术优势,EPA 规定的 1613 方法采用同位素稀释法,利用 HRGC- HRMS 检测 PCDD/Fs。其分析的关键点为:用 ^{13}C 同位素内标与样品前处理同时进行,监测样品制备的回收率、同位素稀释的准确度和 GC- MS 方法的确认。^[21,22]采用标准考察异构体的 GC 分离和 MS 的定性定量的分析质量控制。严格控制硅胶、硅镁吸附剂、氧化铝、活性炭等的洗提回收。HRMS 的分辨率要求在 10000 以上,保证 SIM 的灵敏度和稳定性,采用 HRGC 分离。质量控制措施包括:系统空白、回收试验、线性范围、各化合物的保留值窗口、氯取代的同位素峰簇比值、异构体的 GC 分离、质谱分辨率、信噪比、盲样核对以及用 3 个离子定性等。对所有被检测的离子,确定 PCDD/Fs 的存在必须要求其信噪比大于 3:1,且分子的面积比和标准的离子碎片的偏差应在 10% 以内,由内标物得到的数据与标准物的偏差应在 10% 以内,标准物与内标的离子谱图应一致。^[4]由于严格的分析质量保证体系,1613 方法已经成为各实验室分析工作的基础。

串联质谱是另外一种可供选择的方案。在离子源中形成的离子被第一个质量分析器分离,然后选择某些离子进行碰撞裂解,再由第二个质量分析器检测裂解离子。如果第一个质量分析器为扇形 HRMS,设定分离 PCDD/Fs 的 M^+ 碎片;第二个质量分析器为四极杆 LRMS,分离 $\text{M}^+ - \text{COCl}$ 特征碎片。这样仪器的选择性进一步提高,可不通过 GC 分离直接进样,快速测定 TCDD。^[23]但这一方法只能测定同系物,不能分离异构体。因此 HRGC- MS/MS 串联质谱就成为测定 17 种 2,3,7,8- 取代 PCDD/Fs 的要求,而这一仪器与 HRGC- HRMS 的购买和维护费用相当、灵敏度是它的 1/6,HRGC- HRMS 就成为首先选择。

最近美国 FDA 研究了利用较便宜的四极离子储存时间串联质谱(QISTMS)分析方法。^[9]采用这一方法可以检测食品中 TEQ 低于 1 pg/g 水平的 2,3,7,8 取代的 PCDD/Fs(TCDD 为 0.2 pg/g),分析了包括奶、羊脂、蛋、牛肉、鱼和油脂在内的 200 份样品。测定污染样品鸡蛋和鲑鱼的结果与 HRMS 具可比性。FDA 正对这一分析方法进一步改进,以期可达 HRMS 检测限,来替代 HRMS 进行食品 PCDD/Fs 日常监督。^[24]

1.6 结果报告 测定了 17 种 2,3,7,8- 取代的 PCDD/Fs 含量后,每个同系物异构体的浓度乘以相应的 TEF,然后将结果相加。报告的结果就是毒性当量(TEQs)。结果报告时应根据相应的脂肪含量折算成以脂肪计的 TEQs。

2 以 Ah 受体为基础的生物分析方法 尽管 CAC 认为 HRGC- HRMS 是目前唯一适合的分析方法,但由于所使用仪器价格昂贵,试样需多步分离、净化步骤十分繁琐,这一工作在大多数实验室不能开展。这显然不能适合食品卫生监督和监测工作的日常需要,国际上有些实验室试图建立一种以利用生物传感器为原理的快速检测方法。因为 Ah 受体是 PCDD/Fs 发挥毒性作用机制的基础物质,它的被活化程度与 PCDD/Fs 毒性相一致,而 PCDD/Fs 活化 Ah 受体能力与其 TEQs 有关,目前所建立的生物学筛选方法均据此进行。PCDD/Fs 进入细胞浆与 Ah 受体结合活化后,被 Ah 受体核转位因子(ARNT)转移到细胞核,活化的核内基因是特异性 DNA 片段- 二恶英响应因子(DRE),启动发挥毒性作用的基因增加其转录,如细胞色素 P450 1A 亚型,激活芳香烃羟化酶(AHH)和 9- 乙氧基- 3- 异吩唑酮- O- 脱乙基酶(EROD)。^[25-28]以前已经有实验室用细胞培养通过 EROD 活性的测定来反应 PCDD/Fs 激活 Ah 受体的能力,得到 PCDD/Fs 的 TEQs。^[4,29-32]为了增加生物学方法的灵敏度,从 P450 1A1 基因 5' 段分离 DRE,并将萤火虫萤光素酶作为报告基因结合到控制转录的 DRE 上,制备成质粒载体。将这一质粒载体转染 H4IIE 大鼠肝癌细胞系(含 Ah 受体传导途径的各个部件),以此构成的 CALUX 系统萤光素酶诱导活性与 PCDD/Fs 有关,CALUX 相对活性与 PCDD/Fs 的 TEF 相一致,所测定的结果就是 TEQs。^[33-37]这一方法已经与 HRGC- HRMS 化学方法进行对比,结果相当一致。^[37]然而,采用细胞培养方法仍需要一定条件,同时培养时间多达 24 h,整个测定多达几天,不能进行快速检验,不适用于食品安全监督检验要求。有必要对 Ah 受体活化程度进行更直接测定。^[38]在此基础上进一步改进,以 Ah 受体、ARNT 和 DRE 为生物传感器的主要部件,测定转化的 Ah 受体。由于 Ah 受体与 ARNT 为 1:1 结合的同源二聚体,这一同源二聚体可以结合在生物素- 亲和素系统的 DRE 上,采用酶标双抗方法测定 ARNT,避免了抗体不能区别 Ah 受体的难点。由于该方法不再需要细胞内的诱导活化过程,体外活化时间由

24 h 减少到 2 h, 加上 ELISA 检测, 整个分析在 1 个工作日完成。以 Ah 受体为生物传感器建立的免疫生物学方法一次可完成多个样品的检测, 提取方法相对简单, 所得结果就是 TEQs, 方法完成后可以满足卫生监督的大量筛选需要。

由于化学方法是对单个同系物进行测定, 结果判定要以每个同系物的 TEF 乘以含量得到 TEQs, 所以 CAC 指出, 利用 DNA 重组技术建立的 PCDD/Fs 免疫分析和生物分析方法, 可以灵敏、特异地检测出 TEQs, 适合于大量样品的筛选。^[10]但这种方法只能得到一个 PCDD/Fs 总量(同样以 TEQs 表示), 而不能了解样品中 PCDD/Fs 的具体组成。因此一般认为这类方法可以用作筛选和用于特定条件下的监督管理(如在最近的 PCDD/Fs 事件中用于检测进口食品)。在筛选出阳性样品后, 有选择地用质谱方法检测。目前尚没有这一类试剂盒商品正式上市。世界卫生组织正在注视这类方法的开发进展, 因为对于广大发展中国家来说, 这类方法十分适用。

3 结语 比利时二恶英污染事件之后, 国际社会更加重视食品中二恶英的含量问题。食品中二恶英的检测技术再次引起世界的关注。HRGC-HRMS 是目前唯一适用的选择方法, 串联质谱方法有可能用于食品中二恶英的检测, 以 DNA 重组技术建立的生物方法适合于大量样品的筛选检查。PCDD/Fs 超痕量分析仍很复杂、困难, 各实验室的分析能力及技术存在很大的差异。CAC 正加紧制定食品中二恶英限量国际标准的步伐, 各国在努力提高二恶英的检测水平, 我国也需要尽快建立国际认可的检测技术。

4 参考文献

- 1 World Health Organization (WHO). Levels of PCBs, PCDDs, and PCDFs in Human Milk (Environmental Health in Europe No. 3), Bilthoven, WHO European Centre for Environment and Health. 1996
- 2 World Health Organization (WHO). Consultation on Assessment of the Health Risk of Dioxins: Re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI). (ICP/EHH 018 VD96), Geneva, Switzerland. 1998
- 3 International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Polychlorinated Dibenzo-p-dibenzofurans. Lyon: IARC. 1997, 69
- 4 Rappe C, Buser HR, Dodet B, et al. Environmental Carcinogens: Methods of Analysis and Exposure Measurement. Polychlorinated Dibenzodioxins and Dibenzofurans (IARC Scientific Publication No 108) Lyon, IARC, 1991, 11, 105~ 146
- 5 De Jong APJM, Liem AKD. Gas chromatography-mass spectrometry in ultra trace analysis of polychlorinated dioxins and related compounds. Trends Anal Chem. 1993, 12: 115~ 124
- 6 Maier EA, Griepink B, Fortunati U. Round table discussion: outcome and recommendations. Fresenius J Anal Chem. 1994, 348: 171~ 179
- 7 US EPA Method 1613. Tetra- Through Octa- Chlorinated Dioxins and Furans by isotope Dilution HRGC/HRMS. EPA 821-B-94-005, 1994
- 8 US EPA Method 8290. Polychlorinated Dibenzodioxins (PCDDs) and Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs) by high-resolution gas chromatography/ high resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS). 1994
- 9 Hayward DG. Quadrupole ion storage mass spectrometry/ mass spectrometry application to the analysis of all 17 2, 3, 7, 8- substituted chlorodibenzo-p-dioxins (dioxins) and chlorodibenzo furans (furans) in dairy products and high fat foods. US FDA Lab Info Bull No 4084, 1997
- 10 FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. Joint FAO/WHO Food Standards Programm: Codex Committee on Food Additives and Contaminants. Thirty-first Session, Discussion Paper on Dioxins (CA/FAC 99/23). The Hague, The Netherlands, 1999
- 11 Patterson DG, Turner WE Jr, Isaacs SG Jr, et al. A method performance evaluation and lesson learned after analyzing more than 5000 human adipose tissue, serum, and breast milk samples for polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs). Chemosphere. 1990, 20: 829~ 836
- 12 Schimmel H, Griepink B, Maier EA, et al. Intercomparison study on milk powder fortified with PCDD and PCDF. Fresenius J Analyt Chem. 1994, 348: 37~ 46

- 13 Clement RE, Tosin HM. The gas chromatography/mass spectrometry determination of polychlorinated benzo- p- dioxins and dibenzofurans. *Mass Spectr Rev.* 1988, 7: 593~ 636
- 14 Stephens RD, Petreas MX, Hayward DG, et al. World Health Organization international intercalibration study on dioxins and furans in human milk and blood. *Anal Chem.* 1992, 64: 3109~ 3117
- 15 Tuinstra LGMT, Startin JR, Maier EA, et al. Certification of the contents of five polychlorodibenzo- p- dioxins and six polychlorodibenzo furans in milk powder. *Fresenius J Anal Chem.* 1997, 359: 222~ 229
- 16 Van Bavel B, Jaremo M, Karlsson L, et al. Development of a solid phase carbon trap for simultaneous determination of PCDDs, PCDFs, PCBs and pesticides in environmental samples using SEF- LC. *Anal Chem.* 1996, 68: 1276~ 1283
- 17 Smith LM, Staling DL, Johnson JL. Determination of part- per- trillion levels of polychlorinated dibenzofurans and dioxins in environmental samples. *Anal Chem.* 1984, 56: 1830~ 1842
- 18 DiPietro ES, Lapeza CR JR, Cash TP, et al. Evaluation and applications of the Dioxin- Prep automated clean- up system for PCDDs, PCDFs, cPCBs, PCB congeners, and chlorinated pesticides in biological samples. *Organohalogen Compounds.* 1997, 31: 26~ 31
- 19 Clement RE. Ultratrace dioxin and dibenzofuran analysis: 30 years of advance. *Anal Chem.* 1991, 63: 1130~ 1137
- 20 Oehme M, Kirschmer P. Isomer- selective determination of tetrachlorodibenzo- p- dioxins using hydroxyl negative ion chemical ionization mass spectrometry combined with high- resolution gas chromatography. *Anal Chem.* 1984, 56: 2754~ 2759
- 21 Rappe C. Analysis of polychlorinated dioxins and dibenzofurans. *Environ Sci Technol.* 1984, 18: 78a~ 90a
- 22 Maier EA, Van Cleuvenbergen R, Kramer GN, et al. BCR (non- certified) reference materials for dioxins and furans in milk powder. *Fresenius J Anal Chem.* 1995, 352: 179~ 183
- 23 Tondeur Y, Niederhut WN, Campana JE, et al. A Hybrid HRGC/ MS/ MS method for the characterization of tetrachlorinated - p- dioxins in environmental samples. *Biomed Environ Mass Spectrom.* 1987, 14: 499~ 456
- 24 Hayward DG, Heoper K, Andrzejewski D. Tandem- in- time mass spectrometry method for the sub- parts- part- trillion determination of 2, 3, 7, 8- chlorine- substituted dibenzo- p- dioxins and - furans in high- fat foods. *Anal Chem.* 1999, 71: 212~ 220
- 25 Denison MS, Whitlock JP. Xenobiotic- induced transcription of cytochrome P450 genes. *J Biol Chem.* 1995, 270: 18175~ 18178
- 26 Denison MS, Yao EF. Characterization of the interaction of transformed rat hepatic cytosolic Ah receptor with a dioxin responsive transcription enhancer. *Arch Biochem Biophys.* 1991, 284: 156~ 166
- 27 Harper P. The Ah receptor and the toxicity of chlorinated aromatic compounds. In: Josephy PD eds. *Molecular Toxicology.* New York & Oxford: Oxford University Press, 1997.
- 28 Safe S. Determination of 2, 3, 7, 8- TCDD toxic equivalent factors: support for the use of the in vitro AHH induction assay. *Chemosphere.* 1987, 16: 791~ 802
- 29 Tillitt DE, Giesy JP, Ankley GT. Characterization of the H4IIE rat hepatoma cell bioassay as a tool for assessing toxic potency of planar halogenated hydrocarbons in environmental samples. *Environ Sci Technol.* 1991, 25: 87~ 92
- 30 Jones PD, Ankley GT, Best DA, et al. Biomagnification of bioassay derived 2, 3, 7, 8- tetra- chlorodibenzo- p- dioxin equivalents. *Chemosphere.* 1993, 26: 1203~ 1212
- 31 Kennedy SW, Lorenzen A, James CA, et al. Ethoxyresorufin O- deethylase and porphyrin analysis in chicken embryo hepatocyte cultures with a fluorescence multi- well plate reader. *Anal Chem.* 1993, 211: 102~ 112
- 32 Eggers M, Bergman A, Vethaak D, et al. Cytochrom P4501A indices as biomarkers of contaminant exposure: results of a field study with plaice (*Pleuronectes platessa*) and flounder (*Platichthys flesus*) from the southern North sea. *Aquatic Toxicol.* 1995, 32: 211~ 225
- 33 Aarts JMMJG, Denison MS, Cox MA, et al. Species- specific antagonism of Ah receptor action by 2, 2', 3, 3', 4, 4' - hexachlorobiphenyl. *Europ J Pharmacol Environ Toxicol.* 1995, 293: 463~ 474
- 34 Aarts JMMJG, Genijn PH, Blankvoort BMG, et al. Application of the chemical- activated luciferase expression (CALUX) bioassay for quantification of dioxin- like compounds in small samples of human milk and blood plasma. *Organohalogen Com-*

- pounds. 1996, 27: 285~ 290.
- 35 Garrison, PA, Tullis K, et al. Stress- specific recombinant cell lines as bioassay systems for the detection of 2, 3, 7, 8- tetra- chlorodibenzo- p- dioxin- like chemicals. Fund Appl Toxicol. 1996, 30: 194~ 203
- 36 Sanderson JT, Aarts JMM MJG, Brouwer A, et al. Comparasion of Ah- receptor- mediated luciferase and ethoxyresorufin O - deethylase induction in H4IIE cells: implications for their use as bioanalytical tools for the detection of polyhalogenated aromatic compounds. Toxicol Appl Pharmacol. 1996, 137: 316~ 325
- 37 Bovee TFH, Hoogenboom LAP, Hamers ARM, et al. Validation and use of the CALUX- bioassay for the determination of dioxins and PCBs in bovine milk. Food Additive Contam. 1998, 15: 863- 875
- 38 Wheellock GD, Hurst KR, Babbish JG. Bioimmunoassay of aryl hydrocarbon (Ah) receptor transformation in vitro by 2, 3, 7, 8- tetrachlorodibenzo- p- dioxin (TCDD). Toxicol Method 1996, 6: 41~ 50

二恶英事件及其影响(综述)

王晓玲 郑云雁 李小芳 卫生部食品卫生监督检验所(100021)

1 事件经过及比利时采取的措施

1999年3月以来,比利时的一些养鸡业者发现,其饲养的母鸡生蛋率下降,且蛋壳坚硬;肉鸡生长异常等现象。对此人们怀疑饲料有问题,经比利时农业专家调查发现,比利时9家饲料公司生产的饲料中含有致癌物质二恶英(Dioxin),^[1]鸡体内二恶英含量高于正常值的1000倍。^[2]污染事件影响的范围迅速扩大,波及世界多国。

在查找导致比利时饲养业遭受二恶英污染的过程中,在专门为制造动物饲料的有关厂家提供原料的比利时福格拉公司送检的废油样中发现超量二恶英。福格拉公司以收购家畜肥油和植物油为主,其所收集的油提供给油脂加工厂,脂加工厂将其加工后卖给动物饲料生产商。调查人员发现,该公司未对装载废油的油罐进行检查,结果某些人在原本是装废植物油的一些油罐里注入了大量的废机油,废机油与动物油和植物油混合加热产生了有害物质。^[3]对福格拉油脂厂的试样分析表明,试样中含有超过危害水平的二恶英以及与二恶英污染有关的化学物质PCB。

5月27日比利时政府宣布有400家养鸡场使用了受污染的饲料。3个星期后,受影响的农场数增加到1400余家。

比利时政府采取了一系列的措施。比利时卫生部于5月28日下令禁止销售肉鸡和鸡蛋,要求全部回收和销毁目前市场销售的肉鸡和鸡蛋。6月1日将禁止和销毁范围扩大到所有禽肉制品。决定销毁今年1月15日至6月1日期间生产的禽、蛋及其加工制品。6月3日,比利时宣布由于有不少家养猪场或养牛场可能受到污染,当局已将这些养猪场关闭检疫、禁止屠宰,^[4]并对70家可能受污染的养牛场的牛进行检验等。^[5]

不仅比利时受到二恶英的污染,德国、法国、荷兰也受到牵连,经比利时农业部的调查,这批含有高浓度二恶英的动物脂肪共有98t,先后供应了这三国的13家饲料厂,用于生产家畜家禽饲料。总共生产了1060t污染了二恶英的饲料,转卖给上述国家的畜禽饲养场使用。^[6]

2 我国的处理措施

我国政府对比利时等国肉和乳制品检出高浓度二恶英的情况非常重视,卫生部迅速成立了由卫生监督、食品卫生、食品标准、食品检验、污染物分析和法律等有关方面专家组成的紧急事件处理专家组,进行技术性分析和研究,提出对污染食品的处理意见。同时对国际社会关于该事件的处理信息采取零报告制度,及时掌握国际动态,为部党组对该事件处理和决策提供科学的依据,使我国对事件的处理处于有理、有利、有节的主动地位。当确认比利时、荷兰、法国、德国4国自今年1月15日生产的畜禽类和乳制品已进入我国后,卫生部于6月9日急电全国,对上述4国自1999年1月15日生产的乳制品、畜禽肉类制品(包括原料、半成品)暂停进口,已进口的一律查封,暂停销售,全面清查。6月11日外经贸部、卫生部、海关总署等7部局又联合发出