

环境内分泌干扰素分析方法进展

王琳玲¹ 黄卫红¹ 陆晓华¹ 沈韫芬²

1. 华中科技大学, 武汉市

2. 中科院水生生物研究所, 武汉市

摘 要

本文详细介绍了国内外环境内分泌干扰素的分析研究进展状况。着重介绍了环境样品的预处理方法, 并进行了比较和评价, 对适用于不同环境样品和内分泌干扰素的分析方法进行了介绍。

关键词: 环境内分泌干扰素, 样品预处理, 检测

壹、前 言

近年来, 由环境污染引起的自然界动物雌性化问题已成为全球关注的话题。在自然界中, 已发现鱼类、鸟类、爬行动物类以及哺乳动物类出现了生殖器官变异, 内分泌系统失常, 种群退化等现象。环境污染同样使人类生殖功能下降。近年来隐睾症、尿道下裂、子宫内膜异位、阴阳人、发育不全、乳腺癌、前列腺癌等发病率提高。导致上述现象的罪魁祸首便是环境内分泌干扰素, 又称为环境荷尔蒙或内分泌活性化合物。这类有害化学物质多数是由于人类活动而释放到环境中的, 它们在动物和人体内发挥着类似雌性激素的作用, 能干扰体内荷尔蒙, 使生物的生殖机能失常。目前, 环境内分泌干扰素及其相关课题已成为环境工作者研究的热点。

贰、环境内分泌干扰素

环境内分泌干扰素是指由于介入身体内荷尔蒙的合成、分泌、体内输送、结合、作用或分解, 而影响身体正常性的维持, 影响生殖、发育或行动的外来物质。这些物质具有激素活性, 极其微量便会影响人类以及动物体的内分泌系统, 产生负面作用, 而且这种危害是长期甚至多代的。环境内分泌干扰素往往是一些与动物或人体内激素结构相似的有机化合物(如二噁英、多氯联苯类化合物 PCBs、多环芳烃类化合物 PAHs、有机锡等), 以及重金属物质(如铅、汞等), 它们来源于人类活动, 存在于我们息息相关的环境中。我们日常接触到的环境内分泌干扰素包括医药、医疗品中的己烯雌酚、双酚 A 等; 食品、食品添加剂中的食品抗氧化剂等; 农药及降解产物; 多种化学工业

品;重金属镉、铅、汞及二噁英、苯并[a]芘等。这些物质大多具有较好的脂溶性和化学稳定性,毒性大,极微量即可起到扰乱内分泌系统的作用,且一般难降解,停留时间长,容易通过食物链而富集,最终对人类的生存造成威胁。目前,世界上一些发达国家和组织均列出了环境内分泌干扰素的名单。从化学结构看,环境激素主要包括脂溶性有机氯化物、有机锡、非氯有机化合物、天然或合成性激素以及重金属等。

叁、环境内分泌干扰素分析方法

环境内分泌干扰素在环境中广泛存在,但含量极低,通常为 $\mu\text{g/L}$,甚至 ng/L 级。近年来,分析技术有了很大的发展,各种高效,快速的样品预处理技术及分析检测技术已广泛应用于环境样品中环境内分泌干扰素的研究中。

一、环境样品预处理方法

对于环境样品中痕量物质的分析、样品预处理过程往往是决定实验成败的关键。现有的样品预处理技术主要分为溶剂提取和非溶剂提取。溶剂提取包括索氏提取、液相静态萃取、超声萃取、微波辅助萃取以及加速溶剂萃取等。非溶剂提取包括气相提取、膜提取及吸附剂提取等。

1. 传统样品预处理方法

实验室常用的样品预处理方法包括索氏提取、液相静态提取、超声萃取以及固相萃取法。索氏提取萃取效率高,应用范围广,几乎可以用于提取所有固体样品中的各类有机物。液相静态提取可以用于固体样品及液体样品的预处理。超声萃取则大量应用于提取固体或半固体样品中的有机物。固相萃取法则是最为常用的富集水中痕量有机污染物的方法,选用不同类型的吸附剂可以对分析物进行选择吸附。徐根良等用索氏法提取土壤中的氯苯、硝基酚等物质,并用 HPLC-UV 进行测定,方法回收率为 89.4%~92.4%。Helena Kontsas 等对伐木工人的尿液酸解后用甲苯振荡萃取氯酚,并用 GC-MS 测定,回收率为 65%~119%。周传光等利用超声萃取技术提取海底生物样品中的 PCBs,并用 GC-MS 进行了测定,该方法回收率为 95.1%~108.9%。C. Desbrow 等采用 C_{18} 小柱吸附法萃取下水道污水中的雌性激素物质,并用生物荧光法检测雌激素的活性,GC-MS 定量测定,可以检测出浓度在 0.2ng/L 以上的雌性激素物质。这些方法使用广泛,但由于其萃取时间长,溶剂用量大,操作步骤多等缺点,已逐渐不能满足对环境样品快速检测的需要,因此近年来已出现许多新型的样品预处理技术。

2. 微波辅助萃取

微波辅助萃取也称微波萃取是 20 世纪 80 年代后期间世的一项新技术。极性分子在微波电场的作用下产生高速的碰撞和摩擦而产生高热,从而加速两相间的传质过程,缩短溶剂萃取时间。近年来,许多分析工作者已将其应用于土壤、沉积物等样品的分析之中。利用该技术萃取环境样品中的 PAHs、PCBs、有机氯农药、酚类等环境激素的研究均有报道。Vlorica Lopez-Avilla 等利用微波萃取技术处理土壤和沉积物样品,用 GC-MS 测定 PAHs、氯苯类、酚类以及有机氯农药类物质,17 种 PAHs 的平均回收率为 75%,大部分酚类物质的回收率均大于 70%,有机氯农药的回收率大于 80%,均高

于传统萃取法。微波辅助萃取技术与传统的溶剂提取技术相比,具有快速、高效、节能、省溶剂等优点,适用于从多种固体、半固体试样中提取有机物,是一种很有前途的样品预处理技术。

3. 加速溶剂萃取 (ASE)

加速溶剂萃取是近年来发展起来的一种高效萃取技术。在高温条件和一定压力下,分析物从基体上的解吸和溶解动力学过程加快,溶剂的溶解能力增强,且溶剂能保持液相,因此可减少萃取时间和溶剂用量,提高萃取效率。Peter Popp 等用 ASE 技术萃取固体废弃物中的 PAHs、PCDD、PCDF 以及含氯农药等,用 GC-MS 进行测定,研究表明 ASE 在最佳条件下,其萃取效率高于传统的索氏提取和自动索氏提取法。加速溶剂萃取技术的应用范围与索氏提取法相当,但其萃取时间(约十几分钟)和溶剂用量(约 10~15ml 溶剂/10g 样品)却大大减少,而且操作简单,安全可靠。然而由于其专用设备价格昂贵,我国在这方面的研究较少。

4. 超临界流体萃取 (SFE)

超临界流体萃取是近年来非溶剂提取技术领域研究的热点。超临界流体萃取技术是利用超临界区溶剂的高溶解性和高选择性将溶质萃取出来,再利用临界温度和临界压力的降低,使溶剂和溶质分离。在环境样品的预处理中通常采用高纯 CO₂ 或高纯水作为萃取剂。已有研究表明,环境样品中的 PCBs、PAHs、有机锡、部分农药以及氯酚等均可用该技术进行预处理。丁明玉等用超临界流体萃取法直接从大豆粉中选择性地萃取有机锡化合物,并用超临界流体色谱法-紫外检测进行测定,最大萃取率约为 60%,并可以同时消除脂肪类物质的干扰。Yu Yang 等的研究表明,在不同温度和压力下,超临界水可以分别萃取土壤样品中的极性、中极性和非极性有机物。超临界流体萃取技术效率高,耗用时间短,且不需要使用有机溶剂,但选择性不强,常需要一种共溶剂即改性剂。实践中,分析工作者将该技术与固相萃取或固相微萃取技术联用,可以达到选择性分析的目的。

5. 膜提取

膜提取技术主要适用于提取液体样品中的有机物。王毅等利用半透膜采样技术监测淮河水中的 PCBs、PAHs、氯酚、苯胺、取代苯、阿特拉金等有毒有机污染物,采用 GC-MS 进行测定,PCBs 的检测限为 0.01pg/L,PAHs 的检测限为 0.1ng/L,该技术与液液萃取和固相萃取相比富集倍数明显提高。膜提取技术的样品前处理相对简单,易于保存,预处理费用低,而且具有一定的选择性,富集倍数高,将是一种极有前景的环境水样品预处理技术。

6. 固相微萃取 (SPME)

固相微萃取技术是 20 世纪 90 年代初发展的样品预处理方法。它与各种分析方法相结合对有机物特别是挥发性和半挥发性有机物的分析已得到了深入的研究和广泛的应用。该技术集中了固相萃取法的所有优点,同时又可以减少固相萃取中用到的净化、浓缩等步骤,而且可以避免使用有机溶剂,集样品预处理和进样于一身,极大提高了分析速度。Maw-Rong Lee 等采用 SPME-GC-MS 测定了垃圾填埋场渗滤液中的 5 中氯酚类优先污染物,检测限低于 ng/L。Kimberly J. Hageman 等采用超临界水萃取-固相微萃取联用技术萃取土壤、空气颗粒等样品中的 PAHs 类半挥发性有机物,并用 GC-MS

测定,回收率为 60%~140%,优于传统的索氏提取法。固相微萃取技术,无溶剂,萃取效率高,简单,时间短,应用广泛,是一种非常有应用前景的样品预处理技术。该技术除可与气相色谱技术联用外,还可与高效液相色谱等技术联用。随着新型膜材料的发展,固相微萃取技术的应用范围将更加广泛。

二、分析检测方法

常用于环境内分泌干扰素的仪器分析方法有:气相色谱法(GC)、高效液相色谱法(HPLC)、毛细管电泳法、超临界流体色谱法(SFC)以及电化学法等。气相色谱法一般适用于挥发性半挥发性有机物的分离分析。常常联用的检测器有质谱检测器(MS)、电子捕获检测器(ECD),以及氢火焰离子检测器(FID)等。气-质联用(GC-MS)是环境分析中最为常用的方法,可用于同时对多种组分进行分离分析,与SIM联用后可以更有效地进行选择性的检测。高效液相色谱法常用于难挥发性有机物的分离分析,常用的检测器有紫外(UV)、荧光、电化学检测及质谱(MS)等检测器。近年来,超临界流体色谱新技术已逐渐应用于环境内分泌干扰素的检测中,各种技术的联用也已成为环境分析工作者研究的热点。部分环境内分泌干扰素的分析检测方法详见表 1。

表 1 环境内分泌干扰素的分析方法

分析方法	环境样品	分析要点
GC-MS	土壤,沉积物	超临界流体萃取 PAHs, 微波萃取 PCBs, PAHs, 酚类, 有机氯农药; 加速溶剂萃取 POPs, 碱液萃取后固相萃取 16 种酚, 超临界水萃取半挥发性有机物 (PAHs), 超声萃取六六六类, DDT 类, 多氯联苯类, 氯苯类
	鱼肉	液相静态萃取有机锡, 微波萃取有机氯农药
	废水, 地表水	液相静态萃取雌性激素类, 酚类, 双酚 A; 半渗透膜萃取 PCBs, PAHs; 固相萃取 PCBs, PAHs, 取代苯等, 雌性激素, 2,4-二硝基酚, 农药,
	尿	液相静态萃取氯酚类
	固体废弃物	加速溶剂萃取 PAHs, 含氯农药, PCDD, PCDF
	垃圾填埋场渗滤液	固相微萃取氯酚
GC-ECD	土壤, 催化剂, 污泥	超临界水萃取极性, 中极性, 非极性有机物, PAHs
	松针	索氏提取 PCBs
	鱼	液相静态萃取 PCBs, DDT 类、六六六、氯苯、林丹
	土壤, 沉积物	液相静态萃取氯氰菊酯, 超临界流体萃取 PCBs, 农药, 氯代和溴代化合物, PCB, PCDB; 超临界水萃取 PCBs, 超声萃取有机氯农药, 超声萃取 PCBs, 微波萃取烷烃、农药
	自来水	液相静态萃取苯酚, 2,4-二氯酚, 2,4,6-三氯酚, 4-五氯酚, 对硝基酚
	地表水	半渗透膜萃取 PCBs, DDT 类, 固相萃取农药, 固相微萃取氯酚, 甲基对硫磷等
	木浆, 木材	索氏提取 13 种含氯物, 超临界流体萃取 PCP 及其油性溶剂

续表

分析方法	环境样品	分析要点
GC-FID	地表水	液相静态萃取六六六类, 超临界流体萃取有机物全分析, 固相微萃取 11 种酚
	海底沉积物	微波萃取烷烃, 农药
	木材	超临界流体萃取五氯酚
	土壤, 催化剂, 污泥	超临界水萃取极性, 中极性, 非极性有机物, PAHs
HPLC-UV	大气, 地表水, 土壤	甲醇吸收大气, 索氏提取土壤, 固相萃取地表水, 检测对硝基酚, 硝基氯苯, 氯苯
	地表水	液相静态萃取 11 种优先检测酚, 固相萃取 11 种酚类, 氯酚类, 农药
	土壤	微波萃取 PAHs, 超声萃取-固相萃取净化 EPA16 种 PAHs 优先污染物
GC-MS-MS	饮用水, 自来水	固相萃取 11 种酚, 氯酚
GC-MS-MS	皮革	液相静态萃取五氯酚
FIA-SP	水	在线液液萃取痕量酚, 固相萃取 CPs 优先污染物
GC-表面发射 火焰光度检测	水样, 淤泥	有机锡
SFC-UV-VIS	大豆粉	超临界流体萃取有机锡
HPLC-荧光 检测	水	固相萃取 PAHs
HPLC-电 化学检测	自来水, 泉水	固相萃取 27 种酚
HPLC-光 化学检测	地面水	固相萃取烷基酚, 硝基酚, 氯酚
原子吸收 光谱法	水样	液相静态萃取有机锡
毛细管 电泳-UV	自来水, 河水	固相萃取 11 种酚类优先污染物
毛细管电泳- 电化学检测	自来水, 泉水	固相萃取 27 种酚
GC-原子 发射光谱	饮用水, 自来水	固相萃取氯酚类, 8 种氯酚