

气相色谱法测定胎盘中的666、DDT

江夕夫 汪小丰

(江苏省环境卫生监测站)

摘 要

胎盘中666、DDT的含量基本上反映胎盘生长期间母体所处环境666、DDT的残留水平和从环境的摄入量。以高氯酸、冰醋酸消解胎盘组织,环己烷萃取,气相色谱法测定666、DDT的含量,回收率在96%以上,测定结果的变异系数小于6.4%。

666、DDT 化学性质稳定,半减期长,具有高脂溶性和抗生物分解的特性。在地球环境中是分布最广的污染物之一,并通过食物链在人体内积累,对人体健康具有潜在的危险性。人体脂肪中的 666、DDT 含量表明其在人体内持续性的积蓄水平。人胎盘是人体的新生组织,所以胎盘中666、DDT 的含量基本上反映胎盘生长期间母体所处环境的 666、DDT 残留水平以及母体从环境中的摄入量。以胎盘作监测材料,进行 666、DDT 污染的环境卫生流行病学调查和环境质量评价,越来越引起人们的注意。且胎盘有地域分布广和较其它人体组织取样容易的优点。

测定生物样品中666、DDT的方法已有很多文献报道^[1-3]。本实验用高氯酸和冰醋酸混合液消解胎盘组织,环己烷萃取,气相色谱法测定 666、DDT 及其异构体和代谢产物。本法操作简便,回收率和测定精密度较好。

一、仪 器 和 试 剂

仪器

1. 气相色谱仪: Perkin-Elmer F-17型
电子捕获鉴定器。
2. 具塞比色管, 25毫升。
3. 60毫升分液漏斗。
4. 恒温水浴。
5. 组织捣碎机。

试剂

1. 去电负性物质蒸馏水: 取1000毫升蒸馏水, 加入环己烷10毫升, 激烈振摇2~3分钟。分层后, 弃去环己烷。
2. 环己烷: 80.5°—81°C重蒸馏。
3. 无水硫酸钠: 分析纯。
4. 冰醋酸: 优级纯。

5. 高氯酸：优级纯。
 6. 混合酸：70% 高氯酸溶液与冰醋酸各500毫升，混匀。
 7. 浓硫酸：优级纯。
 8. 2% 硫酸钠溶液：20克无水硫酸钠，用去电负性物质蒸馏水溶解后稀释至 1000 毫升。
 9. 666、和 DDT 标准储备液：分别称取 α -666、 β -666、 γ -666、 δ -666 和 OP'-DDE、PP'-DDE、OP'-DDT、PP'-DDT、PP'-DDD 各10.0 毫克，用色谱纯苯溶解并稀释至10.0 毫升。
- 666 和 DDT 标准使用液：分别吸取各标准储备液10微升，用色谱纯苯稀释至10.0毫升，得各组分的中间稀释液。以此液用环己烷配制每毫升含 α -666 0.1 微克， γ -666、 δ -666 各0.2微克， β -666、OP'-DDE、PP'-DDE各0.5 微克，OP'-DDT、PP'-DDT、PP'-DDD各1 微克的混合标准溶液。

二、分 析 方 法

1. 色谱条件

鉴定器： Ni^{63} 电子捕获鉴定器

色谱柱：玻璃柱，长 2 米，内径 4 毫米。

担 体：Chromosorb W 80—100目

固定液：2.5% OV—17

柱 温：180°C

鉴定器温度：225°C

载 气： N_2 ，纯度99.98%

柱前压：300KN/m²

2. 操作步骤

(1) 样品制备：取整个胎盘，沥去残血，剪成碎块，用组织捣碎机捣成匀浆。置冰箱中保存，但不使结冰。

(2) 消化：称取 5.0 克胎盘匀浆于25毫升具塞比色管中，加混合酸溶液10毫升，于 80—90°C 水浴中消化 4 小时，使消化液为棕色液体。

(3) 萃取：将消化液转移到60毫升分液漏斗中，以 10 毫升去电负性物质蒸馏水冲洗比色管，洗液并入分液漏斗，加15毫升环己烷，激烈振摇4—5分钟，静置分层。将水相放入另一60毫升分液漏斗中，加10毫升环己烷激烈振摇2—3分钟。分层后，弃去水相。合并环己烷萃取液于上述分液漏斗中。

(4) 净化：于上述环己烷萃取液中加入 5 毫升浓硫酸，轻轻振摇 1 分钟，分层后弃去下层酸液。重复此项操作，直至下层酸液呈淡黄色或无色。放净酸液，加20毫升 2% 硫酸钠溶液，振摇 1 分钟，弃去水相。用脱脂棉吸去分液漏斗颈内外的水膜。将环己烷萃取液放入25毫升容量瓶内，补加环己烷至刻度，加入 2—3 克无水硫酸钠，颠倒振摇数次。

(5) 测定：萃取液一般不需浓缩，直接吸取 10 微升进行色谱分析。如果色谱仪灵敏度不够，可取出5.0毫升于刻度微量浓缩瓶中，于 70°C 水浴中浓缩成 0.5毫升，取此浓缩

液10微升进行色谱分析。

(6) 校正曲线绘制: 取10毫升容量瓶 6 只, 分别加入666、DDT 标准使用液 0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0毫升, 用环己烷稀释至刻度。

分别吸取标准系列各混合标准溶液10微升进行色谱分析, 量取色谱峰高, 绘制色谱峰高(或峰面积)——浓度校正曲线。标准系列的分析与样品分析同时进行。

(7) 计算

$$\text{样品中 666、DDT 各组分含量(微克/克)} = X \cdot \frac{V}{W}$$

X: 从校正曲线上查得的含量(微克/毫升)

V: 萃取液体积(毫升)

W: 样品重(克)

三、实验结果和讨论

1. 回收率试验

吸取2.5毫升666、DDT标准使用液, 用无水乙醇稀释至10.0毫升。称取同一胎盘匀浆14份, 每份 5.0 克, 其中 9 份各加上述标准溶液0.5毫升。即相当于加入 α -666 0.0125微克, β -666、PP'-DDE 各 0.0625 微克。混匀, 加混合酸溶液10毫升。按分析方法消化和萃取, 测定回收率, 测得的回收率为85—104%。

2. 方法精密度试验

取同一胎盘的匀浆 9 份, 每份5.0克, 按分析方法消解和萃取。

α -666、 β -666、PP'-DDE 的变异系数分别为 0.064、0.046和0.036。

3. 与索氏法萃取—气相色谱法比较

索氏脂肪抽提法⁽⁹⁾能将666、DDT 随同脂肪定量萃取到己烷、石油醚等有机溶剂中。分别用索氏法和本法测定同一胎盘样品, 各11份, 测定结果列于表 1。

表 1

实 验 号	混合酸消煮法测定结果(微克/克)		索氏法提取测定结果(微克/克)	
	α -666 + β -666	PP'-DDE	α -666 + β -666	PP'-DDE
1	0.044	0.012	0.043	0.012
2	0.042	0.014	0.043	0.014
3	0.042	0.012	0.046	0.012
4	0.046	0.016	0.044	0.015
5	0.047	0.014	0.042	0.015
6	0.042	0.014	0.042	0.015
7	0.043	0.014	0.044	0.014
8	0.044	0.013	0.045	0.013
9	0.046	0.014	0.041	0.014
10	0.048	0.016	0.043	0.014
11	0.042	0.013	0.042	0.012
均 值	0.044	0.014	0.043	0.014

两法测定 α -666 + β -666 的结果 $t=0.03$ $t < t_{0.01(10)} = 3.169$

两法测定 PP'-DDE 的结果, $t=0.02$ $t < t_{0.01(10)} = 3.169$

计算表明, 本法测定结果与索氏法是很接近的。

4. 萃取效率试验

生物样品经高氯酸、冰醋酸消解后, 以石油醚或已烷萃取, 文献^[5]推荐萃取 3—4 次。不仅费时, 且需大量的玻璃仪器和有机溶剂。本实验取 5.0 克胎盘匀浆, 消解后分别以环己烷 15 毫升、10 毫升、10 毫升、10 毫升四次萃取, 各次萃取液浓缩后分别测定。另取同一胎盘匀浆 3 份, 四次萃取液合并后浓缩测定, 并以此结果作为 5 克胎盘含 666、DDE 的总量, 计算各次萃取的效率。测定结果与计算列于表 2。

表 2

试 验 项 目	平行试验次数	测 定 结 果 (三次平行测定均值)(微克/克)			
		α -666 + β -666	萃 取 效 率	PP'-DDE	萃 取 效 率
合并四次萃取液	3	0.220	100	0.070	100
第一次萃取液	3	0.190	86.36	0.061	87.14
第二次萃取液	3	0.026	11.82	0.007	10.0
第三次萃取液	3	低于 0.003	低于 1.36	低于 0.002	低于 2.85
第四次萃取液	3	痕迹量		痕迹量	

由表 2 可知, 消解液经两次萃取, 已能满足人体材料中 666、DDT 的检测要求。

四、小 结

用高氯酸、冰醋酸消解, 环己烷两次萃取气相色谱法测定胎盘中的 666、DDT, 回收率在 96% 以上, 测定结果的变异系数小于 6.4%, 且使用毒性低和沸点高的环己烷为萃取剂, 具有简便、快速和安全的优点, 适宜于大规模调查中测定多份样品和连续分析。

(1982 年 1 月 8 日收到)

参 考 文 献

- (1) Abou—Donia, M. B., Biochem. Pharmacol., 17, 2143 (1968).
- (2) Rodomski, J. L., et al., J. Chromat. Sci., 8, 108 (1970).
- (3) 中国医学科学院卫生研究所环境卫生研究室, 卫生研究, 1, 88 (1975).
- (4) Stanley, R. L., et al., J. A. O. A. C., 48, 666 (1972).
- (5) 国家海洋局, 海洋污染调查规范, 第四章, 84, 1978.